



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

**“EVALUACIÓN DE LA REMOCIÓN DE NUTRIENTES Y DE LA
BIOMASA ALCANZADA MEDIANTE UN CULTIVO DE UN
CONSORCIO DE MICROALGAS EN AGUAS RESIDUALES”**

TIPO DE TRABAJO DE TITULACIÓN: TRABAJOS INVESTIGATIVOS

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

AUTORA: KENIA LIZETH MIÑO HERRERA

TUTORA: BQF. HILDA GRACIELA GUERRERO

Riobamba - Ecuador

2017

©2017, Kenia Lizeth Miño Herrera

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

El Tribunal del Trabajo de Titulación certifica que: El trabajo Investigativo: “EVALUACIÓN DE LA REMOCIÓN DE NUTRIENTES Y DE LA BIOMASA ALCANZADA MEDIANTE EL CULTIVO DE UN CONSORCIO DE MICROALGAS EN AGUAS RESIDUALES”, de responsabilidad de la señorita Kenia Lizeth Miño Herrera, ha sido minuciosamente revisado por el Tribunal de Trabajo de Titulación, quedando autorizada su presentación.

Fecha

Firma

BQF. Hilda Graciela Guerrero

**DIRECTORA DEL TRABAJO
DE TITULACIÓN**

Dr. Gerardo Medina

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Yo KENIA LIZETH MIÑO HERRERA soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en la Tesis y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO.

Kenia Lizeth Miño Herrera

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Kenia Lizeth Miño Herrera, declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría y que los resultados del mismo son auténticos y originales. Los textos constantes en el documento que provienen de otra fuente están debidamente citados y referenciados.

Como autor, asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación.

Riobamba, 13 Julio del 2017

Kenia Lizeth Miño Herrera

0502321862

DEDICATORIA

A Dios por permitirme concluir mi carrera. A mi madre Mariuxi Herrera por ser una mujer extraordinaria, por luchar día a día desde el momento que nací para forjarme un futuro mejor, por brindarme su amor incondicional para no desfallecer en mis propósitos. A mi padre Luis Miño por brindarme todo su apoyo, por recompensar todo ese amor que un día me hizo falta y que ahora le agradezco por estar junto a mí en los momentos que más lo necesitaba. Siendo ustedes mi mayor motivación para seguir adelante y no enflaquecer.

A mis hermanos por brindarme la oportunidad de luchar para ser un ejemplo a seguir para ustedes. Y a mis amigos que me han aconsejado y han estado en los momentos más duros y buenos de mi vida.

Kenia

AGRADECIMIENTO

A Dios por bendecirme día a día, por darme la sabiduría, la fortaleza para vencer los obstáculos que se me han presentado durante esta etapa, ya que gracias a DIOS que me ha permitido alcanzar una de las metas más anheladas de mi vida.

A mi madre querida por darme la vida, por corregirme, guiarme por estar en los momentos de debilidad y de fortaleza, por ser un ejemplo en mi vida de lucha de constancia, por brindarme su amor, su apoyo en cada instante de mi vida, por creer en mí cuando nadie lo hizo, le agradezco infinitamente por que no sé qué haría sin ti madre mía. A mi padre por brindarme su apoyo, su amor y su paciencia para poder culminar mi investigación.

A mis tutores BQF. Graciela Guerrero y Dr. Gerardo Medina por ser mi guía durante todo este período de investigación de la manera desinteresada han permitido compartir conocimientos para la ejecución y finalización de la misma.

Al gerente de SIPIA S.A por haberme facilitado el ingreso y el tomado de muestras para la realización de la investigación.

A mis hermanos, amigos por sus consejos, por su apoyo incondicional que de una u otra manera han aportado para finalizar esta etapa de mi vida.

Kenia

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
RESUMEN.....	xxii
ABSTRACT	xxiii
INTRODUCCIÓN	1

CAPÍTULO I

1.	MARCO TEÓRICO.....	6
1.1.	Aguas residuales	6
1.1.1.	Agua residual de la industria alimentaria	6
1.1.2.	Características del agua residual de la industria alimentaria	9
1.2.	Ficorremediación.....	10
1.3.	Microalgas.....	11
1.3.2.	Recuento celular de las microalgas.....	15
1.3.2.1.	Cámara de Neubauer.....	16
1.3.3.	Fase de crecimiento de las microalgas.....	17
1.3.4.	Microalga <i>Chlorella Vulgaris</i>	19
1.3.5.	Microalga <i>Scenedesmus sp.</i>	20
1.4.	Aplicaciones de las microalgas.....	21
1.5.	Microalgas en aguas residuales	23
1.6.	Extracción de la biomasa	24
1.7.	Características bioquímicas de las microalgas	27

CAPITULO II

2.	MARCO METODOLÓGICO	29
2.1.	Etapa I de investigación	30
2.1.1.	Cultivo del consorcio de microalgas	30
2.1.2.	Escalamiento.....	31

2.1.3.	<i>Conteo de microalgas</i>	33
2.2.	<i>Etapa II de investigación</i>	35
2.2.1.	<i>Toma de muestra</i>	35
2.2.2.	<i>Caracterización del agua</i>	36
2.2.3.	<i>Evaluación de las microalgas presentes en el agua residual</i>	36
2.3.	<i>Etapa III de investigación</i>	37
2.3.1.	<i>Ensayo de tratabilidad</i>	37
2.3.1.2.	<i>Cinética de crecimiento</i>	40
2.3.1.3.	<i>Remoción del DBO Y DQO</i>	43
2.3.2.	<i>Tratabilidad del agua y producción de la biomasa microalgal.</i>	44
2.3.2.1.	<i>Fase de escalamiento</i>	44
2.3.2.2.	<i>Cosechado de la biomasa</i>	46
2.3.2.2.1.	<i>Sedimentación por gravedad</i>	46
2.3.2.2.2.	<i>Centrifugación</i>	46
2.3.2.3.	<i>Secado de la muestra</i>	47
2.3.3.	<i>Análisis bioquímico de la biomasa</i>	47
2.4.	<i>Análisis Estadístico</i>	48

CAPÍTULO III

3.	<i>MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN</i>	49
3.1.	<i>Etapa I de la investigación</i>	49
3.1.1.	<i>Recuento de microalgas</i>	49
3.2.	<i>Etapa II de la investigación</i>	50
3.2.1.	<i>Caracterización del agua residual</i>	50
3.2.1.1.	<i>Caracterización física</i>	50
3.2.2.3.	<i>Caracterización química</i>	52
3.3.	<i>Etapa III de investigación</i>	54
3.3.1.	<i>Ensayo de tratabilidad</i>	54
3.3.1.1.	<i>Recuento de las microalgas</i>	54
3.3.2.	<i>Final del tratamiento</i>	62
3.3.3.	<i>Calidad de la biomasa</i>	65
3.3.3.1.	<i>Análisis Bioquímico de la biomasa</i>	66
3.4.	<i>Análisis de estadístico</i>	66
3.4.1.	<i>Recuento del consorcio de microalgas</i>	66

3.4.2. <i>Ensayo de tratabilidad</i>	69
3.4.2.2. <i>Remoción de la DQO</i>	70
3.4.3. <i>Tratamiento</i>	72
3.4.3.2. <i>Remoción de la DQO en el tratamiento de 100% y del 60% de Concentración de agua residual</i>	74
CONCLUSIONES	76
RECOMENDACIONES	78
BIBLIOGRAFÍA	
ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1-1: Efectos ambientales de la industria alimentaria.....	9
Tabla 2-1: Taxonomía de <i>Chlorella Vulgaris</i>	20
Tabla 3-1: Taxonomía de <i>Snedesmus sp.</i>	21
Tabla 4-1: Composición bioquímica de las microalgas.	28
Tabla 1-2: Resumen de la Metodología.....	29
Tabla 2-2: Etapas de la investigación.....	30
Tabla 3-2: Parámetros de cultivo de las microalgas.....	31
Tabla 4-2: Escalamiento del consorcio de microalgas a cuatro litros por envase.	32
Tabla 5-2: Métodos de la caracterización del agua residual.....	36
Tabla 6-2: Resumen del ensayo de tratabilidad.....	37
Tabla 7-2: Caracterización del pH en el agua residual.....	38
Tabla 8-2: Metodología de la concentración de agua residual para el cultivo del consorcio de microalgas.	38
Tabla 9-2: Condiciones óptimas de cultivo del consorcio de microalgas.	39
Tabla 10-2: Resumen de la metodología de la tratabilidad del agua.....	44
Tabla 11-2: Escalamiento de la fase de tratabilidad del cultivo del consorcio de microalgas....	45
Tabla 12-2: Métodos usados en el análisis bioquímico de la biomasa.	47
Tabla 1-3: Día uno. Caracterización física del agua residual	50
Tabla 2-3: Día dos. Caracterización física del agua residual	51
Tabla 3-3: Día tres. Caracterización física del agua residual	51
Tabla 4-3: Día cuatro. Caracterización física del agua residual	52
Tabla 5-3: Caracterización química del agua residual de la industria alimentaria SIPIA S.A. ...	52
Tabla 6-3: Observación en el microscopio de las microalgas	53
Tabla 7-3: Cinética de crecimiento del consorcio de microalgas.....	54
Tabla 8-3: Caracterización física del agua del ensayo de tratabilidad.	57
Tabla 9-3: Caracterización química del agua tratada del ensayo de tratabilidad	58
Tabla 10-3: Porcentaje de remoción a los 21 días del ensayo de tratabilidad.	61
Tabla 11-3: Caracterización química del agua tratada del ensayo de tratabilidad.....	62
Tabla 12-3: Pesaje de la Biomasa húmeda a los 21 días de tratamiento	65
Tabla 13-3: Conteo de microorganismos	66

Tabla 14-3: Remoción de la DBO en los cuatro tratamientos en los 21 días	69
Tabla 15-3: Remoción de la DQO en los cuatro tratamientos en los 21 días.....	71
Tabla 16-3: Remoción de la DBO en el tratamiento del 100 y 60% en 51 días.....	72
Tabla 17-3: Remoción de la DQO en el tratamiento del 100 y 60% en 51 días.....	74

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1-1: Cuadrantes de la cámara de Neubauer	16
Figura 2-1: Fases de crecimiento en las microalgas	19
Figura 1-2: Metodología para colar la muestra en la cámara de Neubauer	34

ÍNDICE DE GRÁFICOS

	Pág.
Gráfico 1-2: Conteo de las microalgas inoculadas en el agua residual.....	40
Gráfico 2-2: Centrifugación de la biomasa a 4000 rpm.	46
Gráfico 1-3: Curva de crecimiento en las diferentes concentraciones de agua residual.	55
Gráfico 2-3: Reducción de la DBO a los 21 días en los 4 tratamientos.....	59
Gráfico 3-3: Reducción de la DQO a los 21 días en los 4 tratamientos.....	60
Gráfico 4-3: Reducción del DBO durante 51 días de tratamiento.	63
Gráfico 5-3: Reducción del DQO durante 51 días de tratamiento	64
Gráfico 6-3: Crecimiento del consorcio de microalgas de acuerdo a la concentración y con función al tiempo de cultivo.....	68
Gráfico 7-3: Remoción de la DBO en los tratamientos.	70
Gráfico 8-3: Remoción de la DBO en el tratamiento del 60 y 100% en un tiempo de 51 días...	73
Gráfico 9-3: Remoción de la DQO en el tratamiento del 60 y 100% en un tiempo de 51 días.	75

ÍNDICE DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

AR	Agua residual
CM	Consorcio de microalgas
ARS	Agua residual sola
AD	Agua destilada
CONT	Concentración
DBO	Demanda Biológica de Oxígeno
DQO	Demanda Química de Oxígeno
CO₂	Dióxido de Carbono
N	Nitrógeno
P	Fósforo
CAR	Concentración de agua residual
CAR + CM	Concentración de agua residual más concentración de microalgas

RESUMEN

Evalué la capacidad de reducción de nutrientes y la calidad de la biomasa alcanzada mediante el cultivo de un consorcio de microalgas (*Chlorella Vulgaris* y *Scenedesmus* sp.) en aguas residuales provenientes del proceso de producción de la industria alimentaria SIPIA S.A., se partió de la evaluación del crecimiento del consorcio en este tipo de efluentes, con la capacidad de reducir la elevada concentración de Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) y Demanda Química de Oxígeno (DQO). Según los análisis iniciales al efluente, se presenta un alto contenido de DBO 1712 mg O_2 /L y de DQO 3455 mg O_2 /L y un pH inicial de 4,23 ácido, la cual fue modificada a un pH 7. En la implementación de la metodología se utilizó concentraciones de efluente del 100%, 80% y 60 % y su respectivo control, obteniendo en primer lugar el volumen del inóculo del consorcio de microalgas, para proceder con el pre-tratamiento que tiene un período de tiempo de 21 días, alcanzando la fase exponencial del consorcio en todos los tratamientos a los 10 días del cultivo, el control solo se proporcionó las condiciones óptimas de cultivo de las microalgas obteniendo dos fases exponenciales con comportamiento diáuxico, presentando una mayor densidad celular la concentración del efluente al 60 % $4,75E+06$ cel. ml^{-1} y seguida del 80 % con $3,76E+06$ cel. ml^{-1} . Se realizó una caracterización del efluente a los 21 días de tratamiento obteniendo valores favorables de reducción de DBO Y DQO con mayor porcentaje de remoción de DBO presentó la concentración del 100 % de efluente con un 79 % de reducción y del parámetro de DQO presentó el control con un 88 % de reducción, estos resultados dieron paso a la siguiente etapa que es el tratamiento utilizando la concentración del 100% y del 60% del efluente con una reducción de DBO del 94% y de 91% de DQO. El análisis de la composición bioquímica de la biomasa presenta valores bajos en proteínas, carbohidratos y grasas. Se concluye que el consorcio de microalgas se puede utilizar para la remoción de contaminantes en este tipo de efluentes y se recomienda evaluar la composición bioquímica de la biomasa seca.

PALABRAS CLAVE: <MICROBIOLOGÍA>, <MICROALGA (*Chlorella Vulgaris*)>, <MICROALGA (*Scenedesmus* sp.)> <CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DEL AGUA> < DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO (DBO)> < DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO (DQO)> <COMPOSICIÓN BIOQUÍMICA DE LA BIOMASA > <AGUA RESIDUAL>

ABSTRACT

The nutrient removal capacity and the biomass achieved through the cultivation of a microalgae (*Chlorella Vulgaris* and *Senedesmus* sp.) consortium, in waste water from the production process of the SIPIA S.A. food industry were evaluated. Growth of the consortium in this type of effluent, with the capacity to reduce the high concentration of Biochemical Oxygen Demand (BOD) and Chemical Oxygen Demand (COD). According to the initial analyzes of the effluent, a high content of BOD 1712 mg O_2 /L mg and of COD 3455 mg O_2 /L and a pH 4,23 acid, modified at pH 7 are presented. In the implementation of the methodology, 100%, 80% and 60 % effluent concentration and their respective control were used, first obtaining the inoculum volume of the microalgae consortium, to proceed with the pre-treatment that has a period of 21 days, reaching the exponential phase of the consortium in all treatment at 10 days of culture, the control only provided the optimum conditions of culture of the microalgae obtaining two exponential phases with diabolical behavior, presenting a greater cell density the concentration of effluent at 60% $4,75E+06 \text{ cel. ml}^{-1}$ and followed by 80 % with $3,76E+06 \text{ cel. ml}^{-1}$. A BOD reduction characterization was performed with the concentration of 100 % effluent with a 79 % reduction, and the COD parameter presented the control with an 88 % reduction, these results gave way to the next step which a BOD reduction of 94% and 91% of COD. The analysis of the biochemical composition of the biomass has low values in proteins, carbohydrates and fats, It is concluded that the microalgae consortium “can be used for the removal of pollutants in this type of effluent and it is recommended to evaluate the biochemical composition of the dry biomass.

KEY WORDS: <Microbiology> <Microalgae (*Chlorella Vulgaris*) > <Microalgae (*Senedesmus* sp.) > <Physical- chemical characterization of water> < Biochemical Oxygen Demand (BOD) > <Chemical Oxygen Demand (COD) > <Biomass biochemical composition > < Waste water>

INTRODUCCIÓN

El aumento de la población mundial, la industrialización, el uso indiscriminado de los recursos y la contaminación, ha producido la disminución del porcentaje de agua dulce, más del 80% de las aguas residuales en los países en vías de desarrollo se descarga sin tratamiento, contaminando ríos, lagos y zonas costeras (UNESCO, 2014). Y así afectando a la supervivencia de la biodiversidad e incluso del ser humano.

En el Ecuador se destina para el uso industrial el 5.5% de agua potable, mientras que, solamente cinco de cada cien litros de agua contaminada es tratado antes de su descarga al cuerpo receptor. Y en consecuencia el agua de los ríos ya no es apta para el consumo, ni para el regadío (García, 2012, Neira, 2009).

El uso del agua en la industria alimentaria requieren grandes volúmenes para todas las etapas del proceso de producción, descargando altas concentraciones de contaminantes orgánicos e inorgánico y residuos sólidos tóxicos. Este tipo de efluentes presentan inconvenientes en su tratamiento debido que algunas industrias presentan características de pH ácidos y puede poseer dificultades con los tratamientos biológicos.

La industria alimentaria SIPIA S.A es una multinacional ubicada en Puembo - Pichincha, que provee de diferentes productos alimenticios como conservas de diversos vegetales y frutas, mermeladas, jarabes, vinagres, aliños, aderezos y pulpas, en la cual el uso del agua en la realización de estos productos ocasiona una acidificación del efluente por la presencia de piña, ajo, ají y naranja, una característica que conlleva a grandes problemas como la corrosión de las tuberías y el colapso de plantas de tratamientos que no son construidas de cemento.

Para el proceso de producción de la industria SIPIA S.A se destina grandes volúmenes de agua la cual a final de este proceso son descargados a un pozo de cemento que tiene incorporado tuberías que destinan el efluente a una planta de tratamiento que necesita cambios para aprovechar de mejor manera los nutrientes que presenta dichas aguas como la DBO, DQO que son los parámetros que caracteriza a este tipo de industrias por presentar altos contenidos de materia orgánica, nitrógeno, fósforo, aceites y grasas que son asimilables por las microalgas.

La gran ventaja de usar las microalgas en efluentes de industrias alimentaria es proveer los nutrientes necesarios para el desarrollo de estos microorganismos y generando a la vez un tratamiento de dichas aguas captando el CO₂ del efluente y de la atmósfera, sin presentar contaminantes secundarios y aprovechando su biomasa producida del tratamiento para diversos fines biotecnológicos como lo ambiental, lo agrícola, farmacéutico.

La finalidad de esta investigación es reducir los contaminantes principales como el DBO y DQO, en un período de tiempo corto y a la vez utilizar los nutrientes presentes para el desarrollo de un consorcio de microalgas, evitando costos excesivos en el cultivo con medios sintéticos, y aprovechando este tipo de efluentes para mejorar la composición bioquímica de la biomasa.

JUSTIFICACIÓN

Los altos niveles de contaminantes como la DBO y la DQO que presenta el efluente de la industria alimentaria por ser una de las industrias que mayores volúmenes de agua ocupa para los procesos de producción, y el aumento de la población ha generado que la industrialización que se vaya extendiendo y para satisfacer las necesidades del ser humano ha conllevando a que sus procesos cause la contaminación de las fuentes hídricas por eso hoy en día se buscan alternativas de tratamiento de sus efluentes sean viables, sustentables y ecológicas como es el cultivo de microalgas que ha sido objeto de estudio durante las últimas décadas por su capacidad de combatir el efecto invernadero y sus diversas aplicaciones alimenticio, energéticos, ambientales y agrícolas.

Las microalgas poseen plasticidad metabólica y por su estructura simple presenta la capacidad de adaptarse a cualquier tipo de ambiente, tienen tasas de crecimiento mayores que las plantas, permiten el uso de agua no potable, la producción no es estacional y se puede cosechar a diario (Gouveia L, 2009). En este contexto, el objetivo de esta investigación es utilizar un consorcio de microalgas cultivadas en el agua residual de la descarga inicial del proceso de producción de la industria alimentaria SIPIA S.A, utilizando como fuente de alimentación para el consorcio de microalgas, evaluar la capacidad de remoción de DBO Y DQO en el menor tiempo posible y la mayor concentración nutrientes en la biomasa microalga, así disminuyendo los costos de producción de las microalgas ricas en nutrientes al usar agua residual como medio de cultivo, y generando un tratamiento biológico amigable con el ambiente.

Esta investigación presenta la ventaja del tratamiento del efluente de la industria alimentaria con valores permisibles en sus descargas para ser liberadas a cuerpos de agua, o para emplear estos efluentes para diversos fines a diferencia del uso de tratamientos químicos que son costosos y no elimina todos los contaminantes presentes que ha sido la mayor problemática ambiental, debido a la disminución del porcentaje de agua dulce en el planeta.

La aplicación de este tratamiento biológico permite obtener mayores beneficios que solo tratar el agua sino que también se la usa como medio de cultivo, tienen la capacidad de absorber los nutrientes en su biomasa presentes el efluente y en el transcurso del tratamiento las microalgas captan el CO₂ de los efluentes, el CO₂ atmosférico (1 Kg de biomasa de algas fija aproximadamente 1,83 Kg de CO₂) y produciendo O₂, se estima que el 90 % de la fotosíntesis total de la tierra es realizada por estos organismos acuáticos (Ceron, 2013,p.83); como parte de su metabolismo, generando como producto final la biomasa que es amigable con el ambiente y rica en nutrientes.

ANTECEDENTES

Los diversos usos biotecnológicos y la excelente calidad de la biomasa de microalgas impulsó rápidamente su implementación en la industria, fue entonces en los años 60's en Japón, cuando apareció por primera vez el primer cultivo a gran escala, siendo la especie *Chlorella* la empleada en dicho cultivo. Posteriormente en los años 70's se estableció la instalación de cosecha de la biomasa de las microalgas y cultivo de la cepa *Arthrospira* en México, para los años 80's ya existían 46 fábricas dedicadas a la producción de biomasa (*Chlorella* principalmente) en Asia. Fue de esta forma como el cultivo e investigación de microalgas se replicó rápidamente en las diferentes regiones del mundo (Spolaore, 2006, p. 87)

Por otro lado, la capacidad que tienen las microalgas de crecer en aguas residuales ha impulsado su estudio como depuradoras naturales de contaminantes inorgánicos, tales como el N, P y DQO, como también de algunos metales pesados que son altamente tóxicos para el ser humano y los animales, los cuales prevalecen al final de los tratamientos convencionales de las aguas residuales (Razzak et al, 2009, pp. 623-624)

Las microalgas son microorganismos fotosintéticos capaces de usar la energía solar y el dióxido de carbono para crear biomasa. Debido a que las células crecen en suspensión acuosa, las

microalgas deben tener acceso eficiente al agua, CO₂, y otros nutrimentos (Widjaja. et al., 2009). Éstas, son las plantas de más rápido crecimiento en el mundo y son importantes como fuente de biomasa (Demirbas, 2011).

El éxito de los cultivos en microalgas depende de la habilidad de estas para asimilar el carbono orgánico, el dióxido de carbono de la atmósfera y de los efluentes, así como los nutrientes orgánicos e inorgánicos del agua residual como fuente de alimentación para su crecimiento sin la necesidad de crear y mantener un ambiente aerobio (Wang et al., 2010).

Las microalgas han adquirido gran importancia en los últimos años ya que presentan la solución a diversos problemas en aspectos de alimentación, producción de biomasa y metabolitos de alto valor agregado de origen natural. Las investigaciones sobre el cultivo de microalgas revisten gran importancia dada su amplia aplicación biotecnológica y comercial (Qiang et al., 2008).

La selección de la cepa de microalga es un aspecto muy importante si se quiere tener un crecimiento adecuado y una óptima capacidad de remoción de los nutrientes. (Escorihuela, 2007).

La utilización de microalgas ha demostrado ser eficiente en la reducción de DBO y DQO (Li et al. 2011; Abdel-Raouf et al. 2012) proveyendo también de oxígeno a las bacterias aeróbicas que ayudan a la biotransformación (Abdel-Raouf et al. 2012). Los valores de reducción de la DBO y DQO son variables, puesto que dependen de varios factores ambientales (Godos et al, 2009) (Abdel-Raouf et al. 2012).

La biomasa algal tiene una amplia utilización que va desde biofertilizante a producción de biocombustibles, también para alimentación animal y humana, y para la obtención de productos biotecnológicos con uso en medicina, farmacia y/o cosmética (Gómez 2007, Brennan & Owende 2010, Flotats et al. 2011).

El aprovechamiento de la biomasa de microalgas depende en gran medida de su composición y estado. Los componentes principales de la biomasa de microalgas son habitualmente proteínas (30-60%), carbohidratos (20-30%), lípidos (10-30%) y cenizas (5-10%) (Reboloso-Fuentes et al., 2000, 2001).

La composición bioquímica de la biomasa, puede modificarse fácilmente variando composición del medio de cultivo, la temperatura o la radiación solar a la que están expuestas alteran dicha

composición, bajo ciertas condiciones muchas especies de microalgas pueden acumular en altas concentraciones compuestos de interés comercial (Acién et al., 1998).

El potencial de las microalgas es considerable, sobre todo si consideramos que existen varios millones de especies de algas y microalgas, en comparación con alrededor de 250.000 especies de plantas terrestres (Brennan & Owende 2010).

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la capacidad de remoción de nutrientes y de la biomasa alcanzada mediante el cultivo de un consorcio de microalgas en aguas residuales.

.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar Físico-Química el agua residual de la industria alimentaria SIPIA S.A.
- Evaluar el crecimiento del consorcio de microalgas en el efluente.
- Evaluar la capacidad de reducción de DQO y DBO del consorcio de microalgas, en el efluente.
- Analizar la composición bioquímica de la biomasa del consorcio de microalgas generada del tratamiento.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Aguas residuales

Las aguas residuales son aquellas que son modificadas de su estado natural, por sus diversos usos, es decir que son contaminadas por las actividades antropogénicas, y son descargadas a los cuerpos de agua sin un previo tratamiento. El aumento de la población ha incrementado las necesidades de supervivencia y como consecuencia la contaminación originada por las diversas actividades agrícolas, industriales y urbanas. (Blázquez y Montero, 2010, p.6)

El aumento de los contaminantes como (nitrógeno, fósforo, metales, sólidos suspendidos, materia orgánica etc.) en los cuerpos de agua ha ido en progreso provocando la alteración de los ciclos biogeoquímicos, la disminución del agua sin contaminantes apta para los seres vivos y produciendo la muerte de animales acuáticos por la alta toxicidad que presentan estas aguas residuales (Olarte y Valencia, 2016)

En la mayoría de los cuerpos de agua observamos la problemática de la eutrofización generada por el aumento de nutrientes como el nitrógeno, generando una disminución del oxígeno en el agua debido que la luz solar no puede penetrar en la profundidad por la turbidez que presenta el agua con esta problemática. Generalmente los tratamientos son físicos o químicos con altos costos de inversión, la solución más viable es el uso de micro algas.

1.1.1. Agua residual de la industria alimentaria

El aumento de la población mundial provocó el inicio de la revolución industrial, con el fin de satisfacer la necesidades que presentan la población actual, con el tiempo y las circunstancias las industrias han ido aumentando y generando más contaminación al planeta, a los inicios de la revolución creían que más eran los beneficios que conseguían que los problemas ambientales, pero con el tiempo los problemas fueron más incuestionables sufriendo consecuencias para los

seres vivos y el planeta. Permitiendo al ser humano buscar alternativas sostenibles para acortar estos problemas que provocan daños en el ambiente.

La industria alimentaria se encarga de la elaboración, transformación, preparación, conservación y envasado de alimentos destinados al consumo humano y animal, por lo que engloba gran cantidad de fábricas operadoras. Las aguas residuales de la industria alimentaria, provienen del procesamiento de los alimentos, del lavado de los alimentos y del lavado de los equipos que se usan en el proceso (Spena group).

La industria alimentaria es uno de los sectores productivos que mayor impacto tiene sobre el ambiente, bien sea por sus procesos productivos o por los diferentes productos que salen al mercado. Cada sector en particular genera residuos en diferentes porcentajes de acuerdo con los tipos de productos que fabrican. (Restrepo, 2006).

El procesamiento de alimentos en la industria genera gran cantidad de sólidos suspendidos en el agua residual, ya sea por la producción de azúcares, harinas, conservas, bebidas, lácteos etc... Estas industrias son las que más generan contaminación orgánica, debido al aumento de la materia orgánica en el agua disminuye la concentración de oxígeno inhibiendo la vida de los animales acuáticos, su degradación produce la emanación de gases como el biogás y a la vez provocando la eutrofización por el aumento de nutrientes en el agua evitando que la luz solar sobrepase el agua.

Las descargas de las aguas residuales de la industria alimentaria sin tratamiento generan muchos problemas por su alto contenido de sólidos y de materia orgánica, provenientes de las diferentes etapas del procesamiento incluyendo el proceso de lavado de las materias primas que contenga algún agroquímico por la fumigación de la misma produciendo al aumento de nitratos en el agua (Berkowitz, p.14).

Los efluentes son producto de lavar la materia prima, el uso de calderos generando el agua caliente, la esterilización de los alimentos, transporte de la misma y en el procesamiento de los alimentos para la generación de productos o subproductos. El efluente proveniente de este proceso contiene grandes cantidades de materia orgánica, sólidos disueltos (Pascual, p.4).

Efluentes de la limpieza

Es una etapa muy importante en la industria alimentaria, debido que es trascendental garantizar la sanidad proveniente de los alimentos, que irán al consumo humano, por estos motivos se ocupan grandes cantidades de agua para la limpieza de la materia prima (Pascual, p.4).

Efluentes de servicios

Son provenientes de los calderos, de la refrigeración, usadas para el mantenimiento de los diferentes equipos presentes en la industria alimentaria, usualmente usan productos químicos para su mantenimiento. (Pascual, p.4)

Los efluentes provenientes de la etapa de lavado y de procesamiento ocupan grandes cantidades de agua y a la vez contaminan por lo que generan la materia orgánica, sólidos en suspensión y los diversos contaminantes característico de estas industrias como son los (aceites y grasas, nitratos, fosfatos, potasio, carbono etc...), estos contaminantes varían de acuerdo a la industria alimentaria (Pascual, p.4).

Según (Pascual, p.7).El nivel de carga contaminante de un vertido puede estar influenciado por varios aspectos:

- El tipo de alimento procesado (pimiento, alcachofa, melocotón, tomate, etc.).
- El sistema de producción empleado (lavado con duchas o por inmersión, escaldado con agua o con vapor, pelado térmico, mecánico o químico, etc.).
- La presentación final que se quiera dar a ese producto (congelado, en salmuera, en su jugo, concentrado, etc.).
- El nivel de producción (sistemas continuos o por cargas).
- El tipo de industria (si procesa un solo producto o es multi-producto).
- Si se mezclan las aguas de proceso con las de refrigeración (vertidos más diluidos o más concentrados).
- Si se han implantado buenas prácticas de gestión medioambiental (menor consumo de agua produce vertidos más concentrados).

Tabla 1-1: Efectos ambientales de la industria alimentaria.

Ambiente	Efectos
Atmósfera	Emisiones ácidas. Gases peligrosos. Humo.
Agua	DBO DQO Eutrofización. Sustancias peligrosas. Espumas. Turbidez. Color.
Suelo	Residuos peligrosos Residuos no peligrosos.
Molestias	Visual. Polvo Olor Vibraciones acústicas
Recursos naturales	Energía Agua combustibles

Fuente: Restrepo. 2006

Realizado por: Kenia Miño. 2016

1.1.2. Características del agua residual de la industria alimentaria

Las aguas residuales de las industrias alimentarias se caracterizan por tener altos niveles de DBO y DQO, 10 a 100 veces mayor que el agua residual urbana y en algunos casos los valores son altos de nitratos y fosfatos. Este tipo de industrias presentan altos niveles de biodegradabilidad (Pascual, p.4).

- **DBO**

El significado de sus siglas es la demanda bioquímica de oxígeno, es la cantidad de materia orgánica presente en el agua con facilidad de la transformación biológica, permitiendo que existan una oxidación aerobia y ayudando a los microorganismos reduzcan la cantidad de materia orgánica que un contaminante en las aguas residuales (Echari 2007, p.3).

Para medir en el laboratorio la DBO, su materia en suspensión se realiza durante cinco días, midiendo el oxígeno consumido por una población por estos motivos cuando se realiza el muestreo es necesario llenar hasta la tapa y no dejar ningún espacio por que puede alterar los niveles de DBO presente en la muestra.

Las industrias contienen mayor cantidad de DBO, que se encuentra entre los 1000 hasta los 5000 mg/ O₂ consumido, la cantidad de DBO no puede ser mayor que la DQO.

- **DQO**

El significado de sus siglas es la demanda química de oxígeno, es la cantidad de materia oxidable, y tiene similitud con la DBO a diferencia que la cantidad de oxígeno presente en el agua no es reducida por los microorganismos. Este parámetro no puede ser menor que la DBO, ya que es mayor la cantidad de sustancias oxidables por vía química que por vía biológica (Espigares García, y Pérez p.13).

Se determina en tres horas y, en la mayoría de los casos, guarda una buena relación con la DBO por lo que es de gran utilidad al no necesitar los cinco días de la DBO, y no suministra información sobre la velocidad de degradación en condiciones naturales. (Echarri, 2007, p.3).

1.2. Fitorremediación

Con el transcurso de los años ha aumentado la población y sus industrias, requiriendo más cantidades de agua para cumplir sus necesidades, generando más desechos y avivando la contaminación de las fuentes hídricas, esto ha influenciado a la búsqueda de nuevos tratamientos amigables con el ambiente como es la Fitorremediación.

La fitorremediación es un proceso biotecnológico usado para la remoción de nutrientes de las aguas residuales, permitiendo usar como nutrientes los metales, el nitrógeno, el fósforo, carbono, los que son considerados como contaminantes en las aguas residuales(Olguin,2003), los microorganismos usados para este tipo de tratamiento son las microalgas y las macroalgas, siendo estos microorganismos eucariotas como las algas y procariotas como las microalgas fotosintéticas, la base del funcionamiento del tapete microbiano para lograr con éxito la biotransformación y/o bioacumulación de compuestos. (Citado en Forero, 2015, p.5).

La fitorremediación presenta un doble beneficio usando el agua residual como nutriente para el crecimiento de las microalgas evitando los costos del medio de cultivo y obteniendo como producto final la biomasa rica en nutrientes captados en el efluente líquido que es usado para diversas aplicaciones biotecnológicas, el tratamiento biológico con microalgas tiene muchas ventajas a diferencia de los tratamientos químicos y físicos, las microalgas pueden asociarse y formar consorcios con diferentes microorganismos como hongos, bacterias etc.. Acelerando la disminución de contaminantes en el agua residual. (Ayala, 2015, p.12)

Las microalgas cultivadas para la fitorremediación deben cumplir con 3 condiciones: alta tasa de crecimiento; alta tolerancia a la variación estacional y diurna si es un sistema abierto; y buena capacidad para formar agregados para una cosecha por simple gravedad (Park et al., 2011b).

Las microalgas necesitan la luz solar para llevar a cabo la fotosíntesis y un medio líquido para reproducirse, se utiliza aguas residuales para reducir el costo de producción, utilizando de ella los nutrientes y captando el CO₂ del efluente y a la vez de la atmosfera, produciendo el oxígeno disuelto, permitiendo la eficiencia en la reducción de DBO y DQO (Liang, 2011, p.86 citado en Acurio y Arciniegas), suministrando además de oxígeno a las bacterias aeróbicas que ayudan a la biotransformación (Abdel y Raouf, 2012: p.120).

Este tipo de microalgas tienen la capacidad de remover contaminantes de tres formas: por transporte difusivo del medio a la superficie celular, por el transporte advectivo debido al movimiento del agua en el microambiente de la célula y por reacciones químicas, de esta manera incorporan nitrógeno de preferencia en forma de amonio, incorporándolo directamente en sus células para formar aminoácidos por medio de transaminación. No obstante también tienen la capacidad de incorporarlo en forma de nitrato y nitrito (citado en Acurio y Arciniegas, 2015, p.19)

1.3. Microalgas

Las microalgas son organismos acuáticos, unicelulares, la mayoría de ellos son autótrofos pero también viven en condiciones heterotróficas o mixotróficas y capaces de adaptarse a diferentes ambientes, incluyendo en ambientes extremos, influenciando a la investigación de sus aplicaciones biotecnológicas de su biomasa ya sea para fines de biorremediación, alimenticia, farmacéutica, o para energías renovables.

Las microalgas se encuentran de diversas formas y tamaños, necesitan luz y nutrientes para poder crecer, son como las plantas realizan la fotosíntesis solo que a diferencia de ellas, las microalgas realizan el 90 % de la fotosíntesis; (Cerón, 2013, p.84), logrando convertir entre el 3 y el 8 % de la energía solar en biomasa, y una gran cantidad de aceite mientras que el rendimiento observado en las plantas es de aproximadamente un 0,5 % (Lardón et al., 2009).

Las microalgas tienen mayor composición bioquímica y productividad que los cultivos tradicionales, contienen alto valor biológico por su metabolismo. Permite captar el dióxido de carbono en mayores cantidades transformándolo en oxígeno a diferencia de las plantas que no producen mucho oxígeno como las microalgas.

El número de taxones es elevado, existiendo gran variedad de especies catalogadas y disponibles. Se cuentan hasta ahora más de 30.000 especies de microalgas sobrepasando las 10.000 especies de cianofíceas y clorofíceas, representando en la actualidad un recurso prácticamente inexplorado. (Cerón, 2013).

De acuerdo con la clasificación sistemática, las cientos de miles de especies de algas pueden agruparse en nueve divisiones siendo las más importantes las siguientes: Chlorophyceae (algas verdes), Phaeophyceae (algas pardas), Pyrrophyceae (dinoflageladas), Rhodophyceae (algas rojas) y Chrysophyceae (algas verde-amarillas) (Van den Hoek et al., 1995).

1.3.1. Parámetros de cultivo

Las microalgas para su desarrollo necesitan nutrientes inorgánicos, orgánicos y elementos trazas, como el carbono, nitrógeno, fósforo estos dos últimos nutrientes son los principales para que puedan tener mayor reproducción y mayor obtención de biomasa, pero si se los limitan pueden aumentar los lípidos en su composición.

La disponibilidad de nutrientes y los requerimientos físicos son importantes para que no alcancen una fase de muerte, tanto el pH, la temperatura, luz y agitación influyen en la composición final de la biomasa. En el cultivo de las microalgas interviene la edad del cultivo para su inóculo, debido que puede tener lento crecimiento.

Los nutrientes y los parámetros físicos dependen de las características de las microalgas y sus necesidades para su crecimiento, si se les cultiva en condiciones de estrés puede aumentar o disminuir propiedades bioquímicas en la biomasa de las microalgas.

Luz

Es uno de los factores importantes para realizar su fotosíntesis y convertirle en biomasa, su eficiencia esta entre 1 y 4% en sistemas abiertos como estanques y aún mayores en fotobiorreactores cerrados (Stephens, 2010). Si se limita la luz puede llegar a inhibirse las microalgas.

En estanques abiertos es más difícil controlar la luz debida que es recibida por parte del sol, los cambios bruscos de la luz pueden disminuir la concentración bioquímica en la biomasa. El cultivo de las microalgas en estanques se debe tomar en cuenta que en los estanques deben ser poco profundos para que la luz se disperse.

En ausencia de limitación por nutrientes, la fotosíntesis se incrementa con el aumento de la intensidad lumínica, hasta alcanzar la máxima tasa de crecimiento específica para cada especie en el punto de saturación por luz (Park et al., 2011a).

pH

El pH es uno de los parámetros que influyen en su crecimiento, puede alterar los nutrientes en las diferentes formas que se encuentre y que su asimilación sea lenta o puede inhibir su crecimiento, la mayoría de las microalgas se desarrollan en un pH de 7 a 9, con un óptimo entre 8,2–8,7. (Malgas, 2013, p.12).

La asimilación del CO₂ por las microalgas causa el aumento de su pH, obteniendo la disminución o eliminación del nitrógeno y fósforo convirtiéndole el nitrógeno en amoníaco y el fósforo en ortofosfatos.

Temperatura

La temperatura influye en el desarrollo de las microalgas, aunque existen ambientes extremos que son capaces de adaptarse a temperaturas como la Antártida, pero para que alcance la fase exponencial en menor tiempo necesitan una temperatura óptima que se encuentra entre 28° y

35°C, esta temperatura es de manera general y por encima de esta, aumenta la respiración y la fotorrespiración reduce la productividad global (Park et al., 2011a).

Por otro lado la temperatura es importante para la disociación de las moléculas de carbono, haciéndolo disponible para la fotosíntesis. (Ruíz, 2015, p.15).

En los sistemas cerrados de cultivo de microalgas es más fácil controlar su temperatura debida que interviene la acción antropogénica, pueden ocuparse invernaderos, en cambio los sistemas abiertos tiene más dificultades en controlar por los cambios bruscos de temperatura del ambiente.

Aireación.

La aireación en los cultivos facilita la homogenización de las microalgas en el medio líquido, evitando la sedimentación de la misma y la adherencia a las paredes de los fotobiorreactores o de los envases donde se cultiva, facilitando la dispersión de la luz y controlando su pH.

La cantidad de aireación depende del volumen del cultivo y su densidad, cada especie de microalgas tienen su tolerancia a la aireación, no todas las especies de microalgas toleran una aireación fuerte, algunas son sensibles al estrés hidrodinámico. (Malgas, 2013, p.12).

Nutrientes

Las microalgas necesitan macronutrientes (S, K, Na, Fe, Mg, Ca), micronutrientes (B, Cu, Mn, Mo, Zn, V y Se). (Malgas, 2013, p.11) para su desarrollo y los nutrientes principales son el Nitrógeno, Fósforo y Carbono, para la transformación de compuestos necesarios para diferentes fines biotecnológicos en su biomasa resultantes.

Carbono

Las microalgas captan el carbono en forma de dióxido de carbono siendo un nutriente para su desarrollo y liberando el oxígeno, el mínimo de dióxido de carbono que necesitan 1,85 g CO₂/g de biomasa, pudiendo calcular por estequiometria la necesidad de dióxido de carbono de acuerdo al volumen que se cultiva (Malgas, 2013, p.10).

El dióxido de carbono podemos encontrar en las industrias, en los tubos de escape de los carros, en las termoeléctricas, las microalgas pueden tolerar de 150.000 ppmv hasta 400.000 ppmv de este gas, siendo un nutriente para ellas (Malgas, 2013, p.10).

Nitrógeno

Es uno de los macronutrientes importantes para el desarrollo de las microalgas, estos organismos lo asimilan como nitrato, nitrito, amonio o como óxidos de nitrógeno dependiendo del estrés y las condiciones de cultivo, se considera que el contenido de nitrógeno presente en las microalgas es aproximadamente del 1 al 10% tomando en cuenta la cantidad de nitrógeno que se le provea a la microalga, al aumentar los nutrientes esenciales en el medio de cultivo de estos organismos aumenta la productividad de biomasa (Malgas, 2013, p.10).

El nitrógeno es esencial y en condiciones de estrés produce mayor porcentaje de lípidos es decir si se disminuye la disponibilidad de nitrógeno como nutriente aumentaría en un 40 % los lípidos, por lo general el contenido de lípidos presentes en las microalgas es el 20 %, y como consecuencia de limitar este nutriente disminuye la producción de biomasa.

Fósforo

La asimilación de fósforo es menor que el nutriente del nitrógeno, está disponible para la aprovechamiento en forma de Ortafosfatos, esto contribuye si el medio de cultivo se encuentra en equilibrio con un óptimo pH, caso contrario si el medio de cultivo se encuentra con un bajo o alto pH su forma de asimilación es de fosfatos de igual manera si no hay presencia de los iones de magnesio, sodio y potasio.

Diversos autores concluyen que la toma de nutrientes por parte de las microalgas se ve influida por la relación N: P en el medio de cultivo, de modo que se producirá un mayor crecimiento y toma de nutrientes cuanto más próxima esté a la composición de las microalgas. Por ejemplo, para la microalga *Chlorella* la relación óptima es de 8:1 (Aslan y Kapdan, 2008 citados en malgas 2013).

1.3.2. Recuento celular de las microalgas

Las microalgas tienen mayor desarrollo y adaptabilidad que las plantas, doblan su biomasa muy rápido de 8 a 24 horas, y cuando se encuentra en la fase de crecimiento exponencial puede llegar a duplicarse en un corto tiempo 3,5 horas.

Para medir el crecimiento de las microalgas en el laboratorio existe diferentes métodos como el espectrofotómetro mide la densidad de las microalgas y el recuento celular por medio del conteo

en el microscopio mide el crecimiento del cultivo es el método más usado por ser económico y sencillo.

El inconveniente de usar el método de recuento celular por microscopio es obtener un conteo representativo debido que en el conteo visual no se diferencia entre células vivas o muertas, influye el volumen de la muestra, la dilución que se ocupe y el tipo de cámara que se usa para el conteo, por lo general se usa el hematócimetro con profundidad de 0,1 mm llamado cámara de Neubauer (Arredondo y Voltolina, 2007, p. 22).

1.3.2.1. Cámara de Neubauer

Es conocida como hematócimetro con una profundidad de 0.1 mm, es usada para el conteo de células no tan grandes. La mayoría de laboratorios emplean esta cámara debido a la accesibilidad y a lo sencillo que es el conteo.

Es una cámara de vidrio que es usada para el recuento de varios microorganismos, posee un cubre cámaras que también es de vidrio, la cámara consta de 9 cuadrados lados de 1 mm, cada uno de los cuales corresponden a un volumen de 0.1 μ L. Los cuatro extremos están subdivididos en 16 cuadrados pequeños. (Arredondo y Voltolina, 2007, p. 22)

La cámara de neubauer consta de cuatro cuadrantes denominados **A, B, C y D**

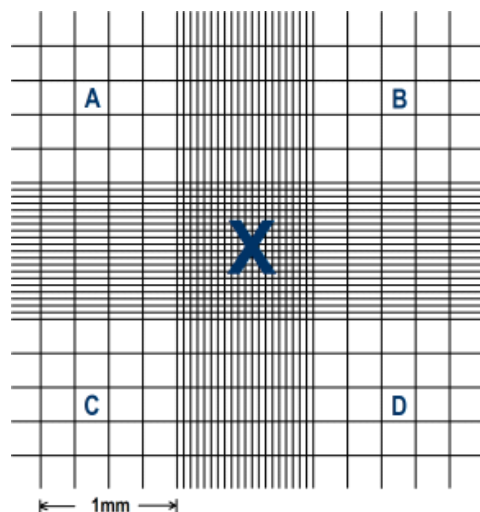


Figura 1-1: Cuadrantes de la cámara de neubauer
Fuente: (Arredondo y Voltolina, 2007, p. 22)

Ec.1: Determinar el recuento celular (Guillard, 1973)

$$DC = N \times 10^4 \times (F.d.)$$

Donde:

DC= Densidad celular ($\times 10^4$ cel/mL.)

N= Promedio de células presentes en 1 mm^2 ($0.1 \text{ }\mu\text{L}$).

Este número de células se divide de acuerdo al número de cuadrantes contados.

10^4 = Factor de conversión de $0.1 \text{ }\mu\text{L}$ a 1 mL .

F.d.= Factor de dilución (cuando se considera necesario diluir la muestra)

$$F.d: (Vol.i + Vol F/vol.i).$$

1.3.3. Fase de crecimiento de las microalgas

La limitación de nutrientes, el exceso de nutrientes y las condiciones del cultivo ya sean físicas o químicas, como la luz, el pH, nutrientes, temperatura, agitación, la edad de cultivo, el volumen del inóculo permitirán que se alarguen o se acorten las fases de crecimiento de las microalgas.

La curva de crecimiento de las microalgas posee las siguientes fases que se describen a continuación:

Fase de latencia.

El crecimiento de las microalgas no es inmediato, porque es una fase de adaptación de las microalgas al medio de cultivo que se está introduciendo, se registrará el crecimiento a partir del día 1 al 3 dependiendo de la edad de cultivo, el tipo de microalga, las condiciones de cultivo, y el volumen del inóculo.

En el escalamiento del volumen del cultivo de las microalgas ocurre cuando el cultivo se encuentra en crecimiento exponencial por lo cual la fase de latencia se eliminaría debido que las microalgas ya pasaron por un proceso de adaptación. (Arredondo y Voltolina, 2007, p. 26)

Fase exponencial

Esta fase se presenta cuando la microalgas ha pasado por el proceso de adaptación a las condiciones de cultivo, exhibiendo un crecimiento exponencial se da a partir del tercer día, debido que las microalgas tienen tiempos cortos de duplicación. (Arredondo y Voltolina, 2007, p. 26)

Fase de declinamiento relativo del crecimiento

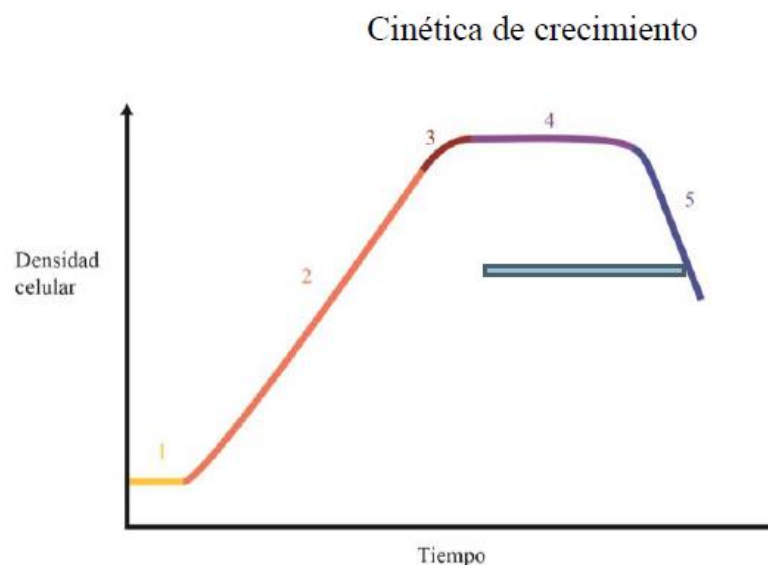
La velocidad de crecimiento de las microalgas empieza a disminuir, ya sea por factores de nutrientes y condiciones de cultivo que se les provee a estos organismos, esta fase dura de 1 a 2 días al final de esta fase las microalgas han llegado al máximo crecimiento. (Arredondo y Voltolina, 2007, p. 22)

Fase Estacionaria

Las microalgas en esta fase se presentan en estado estacionario es decir están en la etapa de equilibrio y no presenta desarrollo, esta fase da lugar a la etapa de muerte por falta de las condiciones óptimas de cultivo. (Arredondo y Voltolina, 2007, p. 26)

Fase de muerte.

Empieza el decrecimiento de las microalgas al entrar en estado de muerte por la deficiencia de las condiciones de cultivo, provocando un deterioro de la calidad del cultivo y presentando espumas, bacterias y hongos que contaminan el medio de cultivo donde se encuentran las microalgas y generando la finalización del cultivo (Arredondo y Voltolina, 2007, p. 26)



Descripción del gráfico: 1 fase de adaptación, 2 fase exponencial, 3 fase de declinamiento, 4 fase estacionaria, 5 fase de muerte

Figura 2-1: Fases de crecimiento en las microalgas

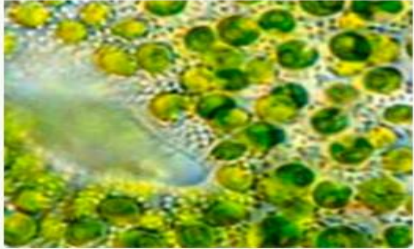
Fuente: Arredondo y Voltolina, 2007, p. 26)

1.3.4. Microalga *Chlorella Vulgaris*

El género *Chlorella*, está formado por formas esféricas pertenecientes a la división CLOROPHYTA y de la clase Chlorophyceae, con característico de media luna en su estructura interior, tiene una reproducción asexual, el período de reproducción depende de la cantidad de luz y temperatura que se le provee o que contenga el ambiente donde se encuentre, su crecimiento empieza en las noches aunque también en el día.

Como característica primordial *Chlorella* tiene un rápido crecimiento con un tiempo de 0.2-h en cultivos foto autotróficos, el desarrollo rápido de microalgas favorece a la rápida remoción de nutrientes presentes proteico, por sus características de adaptarse a cualquier ambiente y a sus diferentes cambios, incluyendo a los ambientes tóxicos en el medio líquido, es una de las microalgas más usadas en la biorremediación y la extracción del contenido

Tabla 2-1: Taxonomía de *Chlorella Vulgaris*

<div>Chlorella Vulgaris</div>  <div>Alga verde unicelular perteneciente al reino Protista</div>	
Nombre científico:	<i>Chlorella Vulgaris.</i>
División:	<i>Eucarya</i>
Filo:	<u><i>Chlorophyta</i></u>
Clase:	<i>Chlorophyceae</i>
Orden:	<u><i>Chlorococcales</i></u>
Familia:	<i>Oocystaceae</i>
Genero:	<i>Chlorella</i>
Especie:	<i>Chorella vulgaris</i> <i>pyrenoidosa</i>

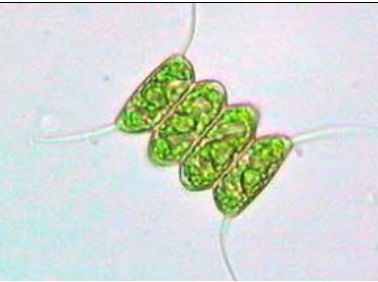
Fuente: https://www.ecured.cu/Chlorella_Vulgaris

1.3.5. Microalga *Scenedesmus* sp.

La microalga *Scenedesmus* sp., posee un largo de 8 a 25 micrómetros y un ancho de 5 a 15 micrómetros, muestra una forma celular elipsoide, ovoide, fusiforme o lunada, su pared celular es lisa, aunque también puede ser ornamentada con diminutas verrugas, presenta un perinoide ubicado aproximadamente en el centro de la célula, tiene cenobios planos, formado por 2, 4, 8, 16 e incluso 32 células dispuestas lado a lado, con sus ejes más largos paralelos entre sí organizado linealmente o en zigzag y su cloroplasto se encuentra ubicado uno por célula y en forma parietal (Nuñez,2008,p. 106).

Puede cambiar su forma para mejor adaptabilidad depende del ambiente donde se encuentre, cambian ya se ha en su interior o exterior.

Tabla 3-1: Taxonomía de *Scenedesmus* sp.

	
División:	<i>Eucarya</i>
Filo:	<u><i>Chlorophyta</i></u>
Clase:	<u><i>Chlorophyceae</i></u>
Orden:	<u><i>Chlorococcales</i></u>
Familia:	<u><i>Scenedesmaceae</i></u>
Genero:	<u><i>Scenedesmus</i></u> Meyen, 1829

Fuente: <http://www.hondurassilvestre.com/search/taxa/taxa.aspx?tsn=6104>

1.4. Aplicaciones de las microalgas

Existen diversas aplicaciones biotecnológicas de las microalgas dependiendo de la especie, de sus características de la composición de la biomasa y de las condiciones de cultivo. El mercado de la biomasa de microalgas tiene un tamaño de aproximadamente 5.000 toneladas/año de materia seca (Pulz y Gross, 2004).

Las investigaciones han generado mucho interés en la diversidad de las microalgas porque son organismos que no compiten con las plantas, pueden adaptarse a lugares que las plantas no sobreviven, acumulan mayor porcentaje de nutrientes en su biomasa y requieren menos espacio para su cultivo, por ello se han realizado estudios de diversas aplicaciones que nos brindan este tipo de organismos.

La ingeniería genética, ha permitido descubrir un sin número de aplicaciones que nos brinda estos organismos. Las ventajas que nos provee las microalgas es disminuir las emisiones de dióxido de carbono que es un gas tóxico que las industrias y los carros eliminan a la atmósfera, las microalgas son capaces de asimilar como fuente de nutrientes pero todavía existen inconvenientes en la emisiones de los gases no solo existe dióxido de carbono si no también coexiste la presencia de oxidados de nitrógeno y azufre, que no asimilan las microalgas.

Las microalgas pueden acumular en su biomasa compuestos de gran importancia para industria farmacéutica, cosmética, alimenticia, acumulando pigmentos ya sean carotenoides, clorofila, asaxantina, luteína, permite acumularse lípidos, proteínas, vitaminas para diversos usos. Las microalgas han desarrollado estrategias que les permiten sobrevivir en condiciones ambientales extremas, tales como sintetizar sustancias mucilaginosas extracelulares para protegerse del estrés hidrodinámico o acumular pequeñas moléculas intracelulares para solventar problemas de osmorregulación en medios salinos. (Peraza, 2014).

Los pigmentos que acumulan en su composición son los encargados del color en las microalgas, ya sea verdes que es la clorofila los más comunes son la ficocianina y la ficoeritrina o amarillos que son los carotenoides como los carotenoides, xantofilas, b-caroteno y la luteína, estos pigmentos son de suma importancia para la investigación biomédica debido que tiene propiedades de prevenir enfermedades como el cáncer y la aterosclerosis (García, 2012, p. 38)

También se investiga a las microalgas para utilizarlas en el futuro como fuente de bioplásticos, componente para la elaboración de pinturas y de bioasfalto.

Las aplicaciones generales que presentan las microalgas se describen a continuación:

Fertilizantes

La biomasa obtenida del cultivo de las microalgas es utilizada como fertilizante ecológico y abono para potenciar el desarrollo de las plantas (García, 2012, p.37)

En la industria alimenticia

La biomasa final obtenida del cultivo de las microalgas es utilizada para la alimentación en humanos y en animales para la alimentación del ganado, peces, camarones y todo lo que tiene que ver con la acuicultura (García, p.37)

Farmacéutica

La biomasa de las microalgas es utilizada como antibióticos, en la curación de algunas enfermedades debido a su componente gelificante antitumoral, anti colesterol y muchas propiedades que contienen las microalgas. Camacho, 2015, p. 25).

Cosméticas

Su biomasa es utilizada comúnmente para prevenir los signos de la edad y obtener elasticidad en la piel, la microalga más usada es la *Spirulina* comercializada en cápsulas, con un sin número de beneficios, previniendo las celulitis, quitando manchas de la cara y usado como protección solar por la capacidad que poseen de foto protección. (Camacho, 2015, p. 25).

Biorremediadoras

Las microalgas son utilizadas para el tratamiento de aguas residuales ya sean urbanas o industriales, removiendo los contaminantes presentes sin generación de posteriores contaminantes y a la vez usado como medio de cultivo, también tiene el beneficio de utilizar en la biorremediación del aire eliminando el gas dióxido de carbono de industrias contaminantes como el de cerámicas y de cementeras sin generar toxicidad en las microalgas (García, 2012, p. 39)

Biocombustibles

Investigaciones actuales han fijado la búsqueda de la microalga que sea capaz de generar mayor cantidad de lípidos en su composición para producir el biodiesel con costos bajos y sin contaminantes, beneficioso para dejar de usar el petróleo para la producción de combustibles contaminantes, también podemos obtener el bioetanol e hidrógeno (García, 2012, p 39)

1.5. Microalgas en aguas residuales

Las microalgas tienen contaminantes como metales pesados, nitratos, contaminantes tóxicos, fosfatos, carbono orgánico, xenobióticos e incluso DBO y DQO como nutrientes para su desarrollo de las microalgas generando una biomasa con beneficios para las diferentes aplicaciones de acuerdo al contenido bioquímico presente en la biomasa microalgal capacidad

biorremediadora de diferentes tipos de aguas residuales ya sean urbanas o industriales, utilizando sus.

Existen varios pasos para el tratamiento de aguas residuales mediante el uso de microalgas como por ejemplo:

Primario, en este proceso se elimina la materia orgánica ligera; secundario, oxidación biológica es la oxidación de la materia orgánica remanente; terciario, este es un paso opcional adicional, este tratamiento sirve para mejorar la calidad del efluente. (Camacho, 2015, p. 25)

El tratamiento de las aguas residuales con microalgas es ecológico, no genera contaminantes, es de bajo costo, no necesita estrictamente un ambiente aerobio, son perfectas para reducir el nitrógeno y fósforo por ser nutrientes importantes para su crecimiento evitando usar el carbono orgánico para la remoción de estos contaminantes, no genera lodos activados después de su tratamiento, asimila el dióxido de carbono en la atmósfera y en los efluentes, soportando mayores concentraciones de este contaminante como en el caso de la asimilación del dióxido de carbono de las industrias de cerámica y cementeras que son las más contaminantes en el planeta.

Son muchas las ventajas que posee las microalgas en tratamiento de aguas residuales produciendo un doble beneficio, utilizando el agua residual rica en contaminantes como medio de cultivo para su desarrollo, y produciendo una biomasa que es usada para diferentes fines biotecnológicos, dependiendo de la composición bioquímica de la biomasa permitiendo acumular en su estructura pigmentos, carbohidratos, proteínas, lípidos y fibras utilizadas para fertilizantes, biocombustibles, fármacos, cosméticos, alimento para animales, etc.

1.6. Extracción de la biomasa

La cosecha final de la biomasa de las microalgas muestra inconveniente por el tamaño pequeño que presentan sus células y que se encuentran en un medio líquido, para la separación de estas dos fases se usan varios métodos que son costosos a grandes volúmenes de cultivo.

Para recuperar una cantidad considerable de biomasa es necesario cultivar a grandes volúmenes. Así también, otro factor importante que influye es la energía, que sigue siendo una de las principales limitantes, porque representa entre un 20% al 30% del costo final de producción (Gouveia, 2011).

La extracción de la biomasa de microalgas en laboratorio a bajos volúmenes no requiere grandes costos, pero con volúmenes mayores requiere energía y costos adicionales a continuación se describen algunos métodos para la extracción de la biomasa.

Sedimentación

Es un método que permite que se sedimente la biomasa, este método depende del tamaño de las células, retirándole la aireación para que no exista una homogenización del medio, permite que la biomasa a extraer se decante y que a simple vista se observe las dos fases tanto líquido como sólido.

La principal desventaja es que los decantadores usados necesitan superficies adicionales además de generar una biomasa con un contenido en humedad alto. Es un proceso lento (0.1 a 2.6 m/h) que puede alterar las características finales de la biomasa generada (Makareviciene et al., 2013).

Centrifugación

Es un método caro que involucra gasto de energía, donde se separa las dos fases de líquido y sólido por medio de una centrifugadora que usa movimientos rotatorios enviando las partículas con mayor densidad al fondo y en la parte superior el sobrenadante.

Existen diferentes diseños de centrifugas industriales, y se ha investigado la eficiencia en la recuperación de la biomasa. Es el proceso más eficiente aunque sus costos de inversión y operación son altos (Acien Fernandez et al., 2012).

Para la centrifugación se usa de 4000 rpm durante 5 minutos donde se evidencia la separación de las dos fases, es un proceso que evita la contaminación de la biomasa microalgal en su extracción.

Filtración

Es un método en el que se usa membranas para facilitar la filtración de las microalgas, dependiendo del tamaño del organismo, se usa métodos como la micro filtración o la ultrafiltración, incluyendo la succión para facilitar la filtración

El micro filtración y la ultrafiltración se usan para volúmenes bajos, tiene una desventaja si se encuentra la presencia de otro tipo de sólidos, soportan volúmenes aproximadamente de 2 m³/día o menores.

Flotación

Es un método que usa la inyección de las burbujas de aire en el fotobiorreactor ayudándole a desprenderse de las paredes residuos de microalgas, y permitiendo que flote la biomasa para su fácil recuperación, es un método muy poco convencional, la ventaja de usar flotación es de que no se usa productos químicos que alteran las características de la biomasa resultante. Algunas especies algales tienen una flotabilidad natural debido a la formación de pequeñas burbujas de oxígeno o a un contenido alto en lípidos (Makareviciene et al., 2013).

La clasificación del proceso de flotación se basa dependiendo del método de producción de burbujas: flotación por aire disperso, flotación por aire disuelto y flotación por aire suspendido (Dries Vandamme, 2013b citado en Camacho 2015).

Coagulación-Floculación

Este proceso consiste en añadir al medio de cultivo determinados productos químicos conocidos como floculantes que no son tóxicos para las microalgas como él (quitosano, el almidón etc...), con el objeto de favorecer la formación de partículas más grandes (Stokes) que llevaran a una rápida sedimentación. Estos productos químicos coagulan las algas sin afectar a su composición y la toxicidad del producto. (Bermeo, 2011, p.12)

Además los factores que influyen en la floculación es por el cambio de pH del cultivo (auto floculación), por la presencia de bacterias u otras especies algales en el cultivo (biofloculación) o mediante una corriente eléctrica (electro floculación) (Fon Sing et al., 2011; Banerjee et al., 2012).

Secado de la biomasa

Existen muchos tipos de secado de biomasa, pero mencionaremos tres los más utilizados para el secado de biomasa microalgal:

El secado por spray (o atomización)

Es un método aplicado para secar o formar partículas con soluciones acuosas u orgánicas, emulsiones, en química industrial y en la industria alimentaria. El secado por spray que comienza

con la atomización del líquido de alimentación en un rocío de gotas en spray. Luego, dichas gotas son puestas en contacto con una corriente de aire caliente en la cámara de secado. Sus desventajas son que requiere altos porcentajes de energía y disminuye los pigmentos de la microalga. (Palacios, 2013, pp: 47- 48).

El secado en tambor rotatorio

Este método de secado se usa principalmente en soluciones acuosas expuestas a un rotador, preferiblemente chapado con cromo, en un tambor climatizado. Y finalmente el secado solar que es un sistema muy antiguo de conservación de alimentos. (Palacios, 2013, p. 47)

Secadores solares

- **Secador solar**, la radiación solar se recibe indirectamente debido que son recolectadas por medio de colectores que circula la cantidad de aire que será beneficiaria para el secado de la biomasa.
- **Secado directo**, es uno de los métodos más usados por ser económico, donde la radiación solar se la recibe directamente, eliminando la humedad por la vaporización presente en la biomasa.

1.7. Características bioquímicas de las microalgas

La calidad de la biomasa depende de la cantidad y la diversidad de nutrientes que se le suministra, como también de las características de las microalgas, debido que algunas de ellas son capaces de acumular más lípidos en su composición, el mismo caso para la proteína, carbohidratos, pigmentos, cenizas y fibra. De acuerdo a la composición general que presentan las microalgas en su estructura presenta los siguientes valores:

Tabla 4-1: Composición bioquímica de las microalgas.

Composición bioquímica	Porcentaje presente
Proteínas	(30-60%)
Carbohidratos	(20-30%),
Lípidos	(10-30%)
Ceniza	(5-10%)

Fuente: (Reboloso-Fuentes *et al.*, 2000, 2001).

Las condiciones cultivo tiene mucha influencia en la composición bioquímica, si se le disminuye la cantidad de suministro de nitrógeno aumenta los lípidos en la composición de las microalgas disminuyendo el porcentaje de proteínas; sucede lo contrario si aumenta el contenido de nitrógeno disminuye los lípidos y aumenta la cantidad de proteínas.

Las microalgas no compiten con las plantas, debido que estos organismos acumulan mayor porcentaje de nutrientes en su composición a diferencia que las plantas, teniendo beneficios en la salud humana.

El alto contenido proteico de varias especies microalgales es una de las principales razones para considerarlas como una fuente de proteína no convencional. A su vez, el perfil de aminoácidos de casi todas las algas es más favorable que el comparado con las fuentes convencionales, los aminoácidos y los péptidos son los de más interés en el campo de la salud. Los carbohidratos en microalgas pueden ser encontrados en forma de almidón, glucosa, azúcares u otros polisacáridos (Ceron, 2013, p: 85-86).

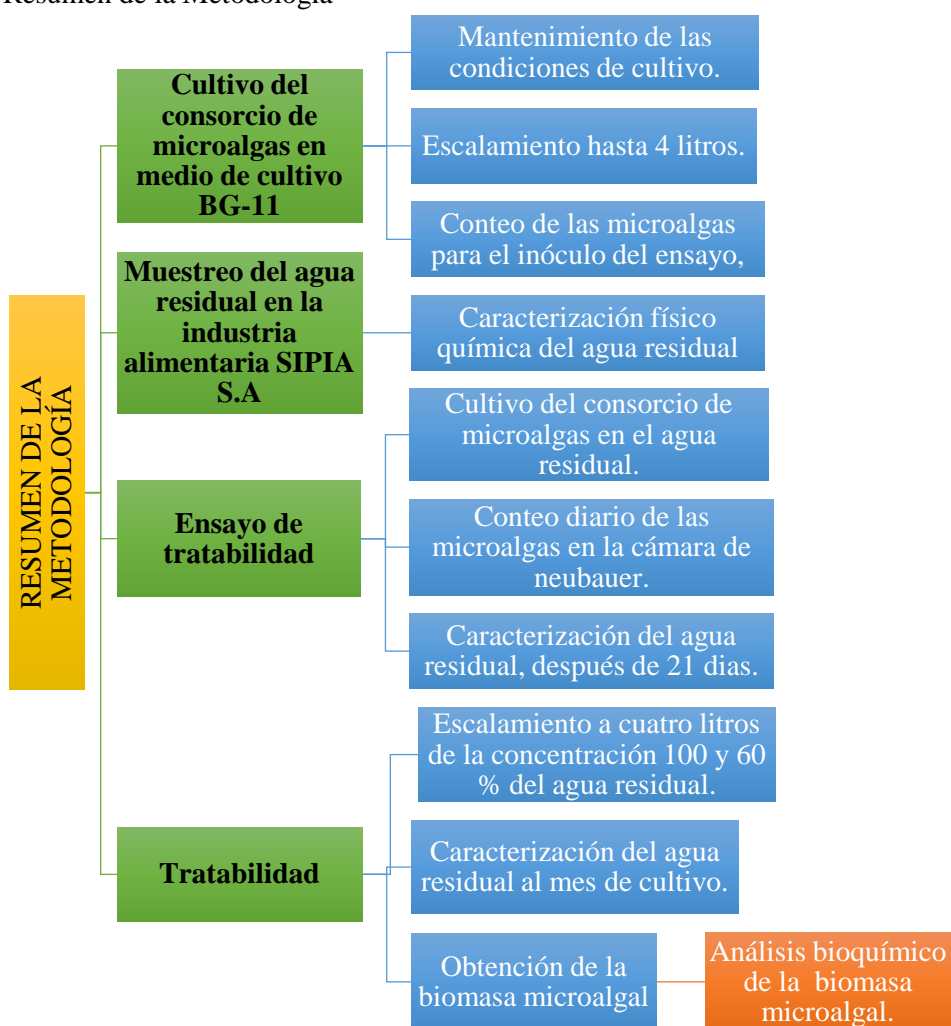
Su digestibilidad es alta. Los lípidos en las microalgas están compuestos de glicerol, bases esterificadas de ácidos grasos saturados e insaturados (12 a 22 átomos de carbono). Entre todos los ácidos grasos en microalgas tienen especial interés algunos de las familias w3 y w6 (ácido eicosapentaenoico, 20:5n3 o ácido docohexaenoico, 22:6n3). (Ceron, 2013, p.86)

CAPÍTULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

La metodología para remover los nutrientes con un consorcio de microalgas y evaluar la calidad de la biomasa se describe a continuación:

Tabla 1-2: Resumen de la Metodología



Realizado por: Kenia Miño.2016

Para la metodología tenemos tres etapas de investigación que se describe en la siguiente tabla:

Tabla 2-2: Etapas de la investigación

ETAPA I CULTIVO DE LA CEPA	ETAPA II MUESTREO DEL AGUA RESIDUAL	ETAPA III REMOCIÓN DE NUTRIENTES Y LA CALIDAD DE LA BIOMASA
<ul style="list-style-type: none"> • Cultivo del consorcio de microalgas 	<ul style="list-style-type: none"> • Muestreo del agua residual de la industria alimenticia SIPIA S.A 	<ul style="list-style-type: none"> • Ensayo de tratabilidad. • Tratabilidad.y producción de la biomasa microalgal. • Análisis bioquímico de la biomasa microalgal.

Realizado por: Kenia Miño.2016

2.1. Etapa I de investigación

2.1.1. Cultivo del consorcio de microalgas

En el cultivo del consorcio de microalgas, se utilizaron dos tipos de cepas: *Scenedesmus* sp y *Chlorella Vulgaris* y se mantuvieron con las condiciones óptimas para su desarrollo.

Procedimiento

- Se preparó medio de cultivo BG-11 para el desarrollo de las microalgas.
- Se comenzó con 200 ml de volumen de BG- 11 y se adiciono una concentración de 1×10^6 cel/mL de *Chlorella Vulgaris* y *Scenedesmus* sp para el mantenimiento de las microalgas.
- Se tomó el pH inicial con un pH metro para verificar que tenga el pH óptimo de 7 a 8.
- El volumen de 250 ml se mantuvo durante 27 días.
- Se acondicionó los parámetros óptimos de aireación constante con mangueras para acuario para proveer de la misma y la luz con lámparas fluorescentes.
- Los parámetros óptimos se describen en la Tabla 3-2

Tabla 3-2: Parámetros de cultivo de las microalgas

Parámetros	Indicadores
pH	7-8
Temperatura	23- 28 °C
Aireación	constante
Luz	1500-2000 luz, acorde al volumen del cultivo.
TDR	57 días

Realizado por: Kenia Miño. 2016



2.1.2. Escalamiento

El mantenimiento del consorcio de microalgas comenzó con un volumen de 200 ml de medio de cultivo y una concentración de 1×10^6 cel/mL. El mismo que permitió la formación del consorcio de microalgas, hasta obtener 8 litros el proceso se describe en la siguiente tabla cuyo tiempo de cultivo fueron 57 días.

Procedimiento

- Se escaló hasta 4 litros por envase es decir en total fueron 8 litros.
- Se escaló con medio de cultivo BG-11.
- Se le proporcionó Nitrofoska líquida con un volumen 3 ml por Litro por semana para obtener mayor producción de biomasa.
- Se mantuvo las condiciones óptimas de cultivo descrito en la tabla 3-2.

Tabla 4-2: Escalamiento del consorcio de microalgas a cuatro litros por envase.

ESCALAMIENTO	CONDICIONES
	<p>Inicio con 200 ml de medio de cultivo BG-11, en botellas de vidrio de 475 ml con un inóculo de 25 ml por especie para formar el consorcio de microalgas.</p> <p>Se mantuvo con aireación constante. Y su tiempo de cultivo fue de 27 días.</p>
	<p>Se usó las botellas de 1 litro para tener un inóculo de 800 ml, se escaló con medio de cultivo, y se mantuvo con los parámetros óptimos para su crecimiento.</p>



Se escaló con medio BG-11 y se usó Nitrofoska como medio de nutriente para obtener más biomasa de microalgas y poder obtener un volumen final de 4 litros por envase. El tiempo de cultivo fue de 30 días.

En esta etapa se realizó un conteo de las microalgas con la cámara de Neubauer para obtener el volumen del inóculo, que se utilizara en cada tratamiento del agua residual en el ensayo de tratabilidad.

Realizado por: Kenia Miño.2016

2.1.3. Conteo de microalgas

El conteo celular se realizó con la cámara de Neubauer, a final del escalamiento para determinar la población de microalgas, y que será necesario para establecer la cantidad de inóculo que iniciará el ensayo de tratabilidad, con una población inicial 1×10^6 cel. mL^{-1} .

Procedimiento

- Homogenización de la muestra.
- Tomar un 1 ml de la muestra y colocar en un tubo de ensayo.
- Diluir la muestra en caso de ser necesario.
- Tomar la muestra en una pipeta.
- Colocar la muestra en un extremo en la cámara de Neubauer, con el cubreobjetos en un ángulo recto.
- Dejar reposar un minuto la muestra en la cámara de Neubauer.
- Dependiendo de la microalga con la que se esté trabajando se puede enfocar con el lente 40X para obtener una mayor visión del campo óptico.
- Se realiza un registro de los cuatro cuadrantes de las dos cámaras superior e inferior y se aplicó la Ecuación 1-1: Para determinar el crecimiento celular.

$$DC = N \times 10^4 \times (F.d.)$$

Para el cálculo del inóculo que necesitara para iniciar el ensayo de trazabilidad y empezar con una población 1×10^6 cel. ml^{-1} . Aplicando la siguiente ecuación.

Ec.1-2: determinación del inóculo

$$C1 * V1 = C2 * V2$$

Donde:

C1= concentración actual cel./ ml

V1= volumen actual ml

C2= concentración con la que se quiere llegar

V2= volumen con la que se quiere llegar

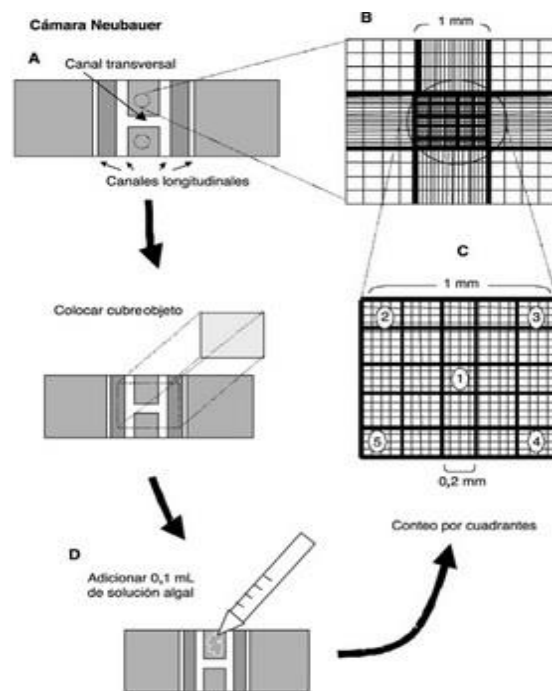


Figura 1-2: Metodología para colar la muestra en la cámara de Neubauer

Fuente: <http://uriel-93.over-blog.com/article-29526447.html>

2.2. Etapa II de investigación

2.2.1. Toma de muestra

El muestro se realizó en la industria alimentaria SIPIA S.A, al inicio de las descargas de aguas residuales generadas por los procesos de producción, el agua captada es conducida mediante una tubería a la planta de tratamiento de la industria.

La toma de muestra se realizó durante cuatro días desde las 8 de la mañana hasta las cuatro de la tarde donde existe mayor descarga de agua residual, es decir, que fue un muestreo compuesto debido a que cada día se realizan diferentes procesos productivos. La caracterización física se realizó in situ debido que se necesitan datos reales, se analizó los parámetros de pH y temperatura. El muestreo se realizó de acuerdo a la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2226:2000 “AGUA. CALIDAD DEL AGUA. MUESTREO. DISEÑO DE LOS PROGRAMAS DE MUESTREO”, para obtener menos errores en la caracterización del agua residual y obtener valores reales de la misma.

Las muestras se recolectaron en recipientes de plástico, previamente lavados con agua destilada y enjuagados tres veces con el agua residual captada para evitar la contaminación cruzada, los recipientes se llenaron totalmente con el agua residual hasta la tapa para evitar dejar espacio de aire y no exista una alteración en los resultados finales analizados en el laboratorio de servicios públicos de la Universidad Central del Ecuador.

En el último día de la toma de muestras se mezcló toda el agua residual obtenida durante el período de muestreo, se recolectaron 14 litros de agua, y los 2 litros se transportaron al laboratorio servicios públicos de las Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Central para la realización de la caracterización química de la misma.

Para el transporte de la muestra se usó una hielera para la preservación de la misma con una temperatura de 5 °C como nos indica la norma y evitar que se altere los parámetros de análisis. El resto del agua se transportó a los laboratorios de Biotecnología de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo para la ejecución de la investigación.

2.2.2. Caracterización del agua

La caracterización inicial del agua residual, se realizó en el laboratorio de servicios públicos de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Central del Ecuador, donde los parámetros analizados son: DBO, DQO, Nitrógeno total, Fosfatos, Nitratos, Aceites y grasas. La cual fueron analizados según los métodos descritos en la Tabla 5-2.

Tabla 5-2: Métodos de la caracterización del agua residual.

PARÁMETROS	MÉTODOS
DBO	MAM-38/APHA 5210 B MODIFICADO
DQO	MAM-23A/MERK112,28,29.132 MODIFICADO
FOSFORO TOTAL	MAM-17/APHA 4500-P C y/o C y E MODIFICADO
NITRATOS	MAM-43/APH 4500-NO3B MODIFICADO
NITRITOS	MAM-81/COLORIMETRICO HACH 375
ACEITES Y GRASAS	MAM-40/APHA 5220 B MODIFICADO

Fuente: laboratorio de servicios públicos de la Universidad Central del Ecuador. 2016.

Al final del ensayo de tratabilidad se caracterizó el agua residual en el laboratorio de calidad del agua de la Escuela de Ciencias de Químicas de Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, y sus parámetros analizados es nitratos, fosfatos, DBO y DQO y se caracterizó “in situ” los parámetros de pH y temperatura.

2.2.3. Evaluación de las microalgas presentes en el agua residual

Se realizó una evaluación de las microalgas presentes en la muestra de agua residual colectada de la empresa SIPIA S.A de acuerdo al siguiente protocolo.

Procedimiento

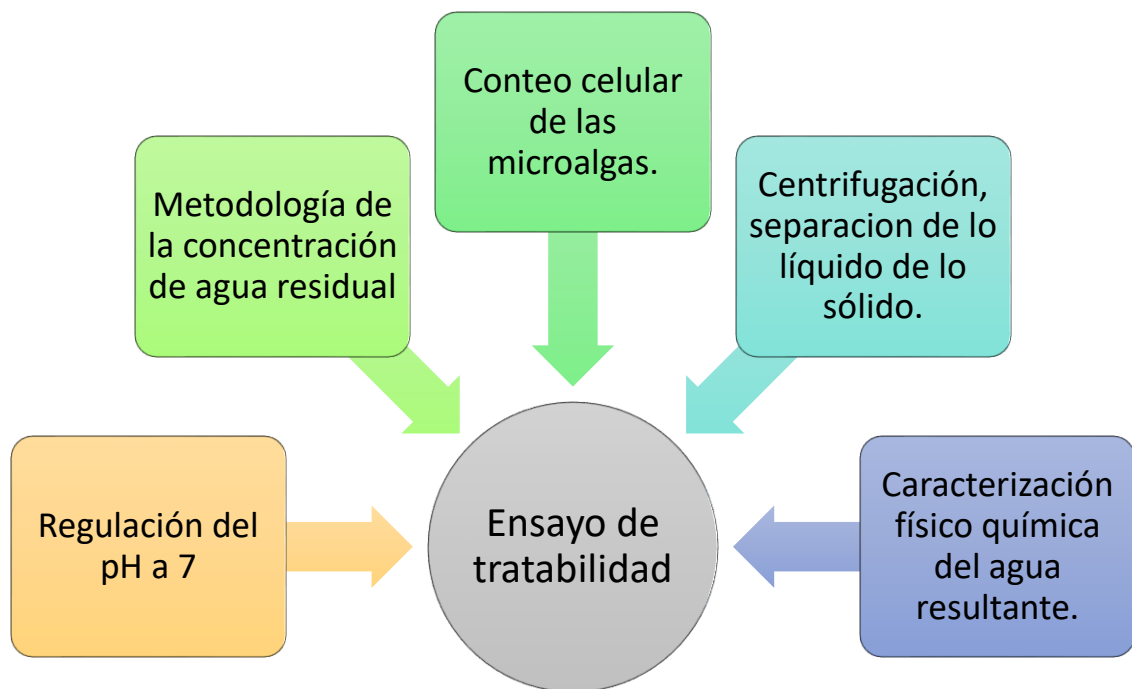
- Se homogenizó la muestra.

- Con la ayuda de una pipeta Pasteur se colocó una gota de muestra en el portaobjeto con su cubreobjetos.
- Se observó en el microscopio iniciando con el 4x hasta el 40 x depende del tamaño de la microalga.
- Se hizo toma de fotografías.

2.3. Etapa III de investigación

2.3.1. Ensayo de tratabilidad

Tabla 6-2: Resumen del ensayo de tratabilidad



Realizado por: Kenia Miño. 2016

2.3.1.1. Regulación del pH óptimo

Procedimiento

- El agua residual colectada se encontraba con un pH bajo de 4,23 debido a que contenía componentes como la piña, el ajo y el ají que acidificaban el agua.

- Para subir el pH se usó bicarbonato de sodio 5g/L según la bibliografía de Ever Morales.
- Obteniendo el pH óptimo para el desarrollo para las microalgas.
- Después se procedió a un filtrado al vacío del agua residual, por el alto contenido de sólidos.
- Posteriormente se volvió a filtrar con una membrana de 0,45 micrómetros con la ayuda de una bomba al vacío para eliminar todo los residuos presentes.

Tabla 7-2: Caracterización del pH en el agua residual

pH inicial del agua residual	pH final (ajustado con bicarbonato de sodio)
4,23	7,5

Realizado por: Kenia Miño, 2016

En esta etapa se planteó una metodología para el cultivo de las microalgas en diferentes concentraciones de agua residual de la industria alimentaria SIPIA S.A descrita en la Tabla 8-2 y con sus respectivas réplicas, debido que presenta altos contenidos de DBO y DQO, permitiéndolo investigar en cual concentración tiene mayor adaptabilidad de crecimiento el consorcio de microalgas.

Tabla 8-2: Metodología de la concentración de agua residual para el cultivo del consorcio de microalgas.

Réplicas	100%	80%	60%	Control	INOCULO(ml)		
	(ml)	(ml)	(ml)	(ml)			
	AR + CM	AR + CM	AD	AR+ CM	AD	ARS	CM
R1	250	200	50	150	100	250	117,9
R2	250	200	50	150	100	250	117,9
R3	250	200	50	150	100	250	117,9

Descripción de la tabla: AR: agua residual + CM: Consorcio de microalgas, AD: agua destilada, ARS: agua residual sola.

Fuente: Investigación de campo

Realizado: Kenia Miño, 2016

En la Tabla 8-2 se describe la metodología utilizando concentraciones del 60%, 80 y 100 % de agua residual, el control con un volumen de 250 mL de agua residual y un volumen de inoculo de 117,9 mL con una concentración de 1×10^6 cel. mL^{-1} . En el tratamiento del 100 % solo se utilizó agua residual sin diluciones con un volumen de 250 mL y se añadió el inoculo del consorcio de microalgas que es 117,9 mL para cada replica. El tratamiento del 80 % se utilizó dilución con agua destilada recurriendo a una regla de tres para sacar los volúmenes de agua residual y agua destilada más el volumen del consorcio de microalgas, para el tratamiento del 60 % se hizo una dilución con agua destilada para llegar a un volumen de 250 ml en total utilizando 150 mL de agua residual y 100 mL de agua destilada más el inoculo del consorcio de microalgas y para el control solo se utilizó los 250 mL de agua residual sin diluciones.

Una vez planteada la metodología de las concentraciones de agua residual se procedió a mantener las condiciones de cultivo óptimas para el crecimiento del consorcio de microalgas descrita en la Tabla 9-2.

Procedimiento

- Se utilizaron envases de vidrio para el cultivo del consorcio de microalgas, previamente esterilizados.
- Las mangueras $\frac{1}{4}$ pulgadas se esterilizaron para evitar contaminación.
- Se instaló 4 lámparas fluorescentes para que el cultivo mantenga la temperatura y la luz óptima para su desarrollo.
- Se midió la temperatura inicial del cultivo del consorcio de microalgas en el agua residual.
- Posteriormente se procedió al conteo celular del consorcio de las microalgas.

Tabla 9-2: Condiciones óptimas de cultivo del consorcio de microalgas.

Parámetros	Condición óptima
Medio de cultivo	Agua residual de la industria alimenticia
pH	7,5
Aireación	constante
Lux	1500 lux

Temperatura	26-29 °C
Tiempo de retención	21 días

Realizado por: Kenia Miño.2016

2.3.1.2. Cinética de crecimiento

El cultivo se inició con una población 1×10^6 cel. ml^{-1} , el conteo celular se realizó con la cámara de Neubauer, se lo hizo todos los días durante 21 días para cada réplica para observar el crecimiento del consorcio de microalgas en el agua residual y de igual manera verificar que especie tiene mayor adaptabilidad en las diferentes concentraciones de agua residual.

Procedimiento

- Se homogenizó la muestra del cultivo.
- Con la ayuda de una pipeta Pasteur se tomó 1 ml de la muestra de cada réplica.
- Se colocó en la cámara de Neubauer y se dejó reposar un minuto.
- Con la ayuda de un microscopio en 40 x.
- Se procedió al conteo del consorcio en los cuatro cuadrantes (A, B, C Y D) de la cámara.
- De igual manera se realizó el conteo por cada especie en el cultivo.
- Se realizó el registro diario del conteo y para obtener la densidad celular se aplicó la Ecuación 1-1.
- Se procedió a realizar la curva de crecimiento.

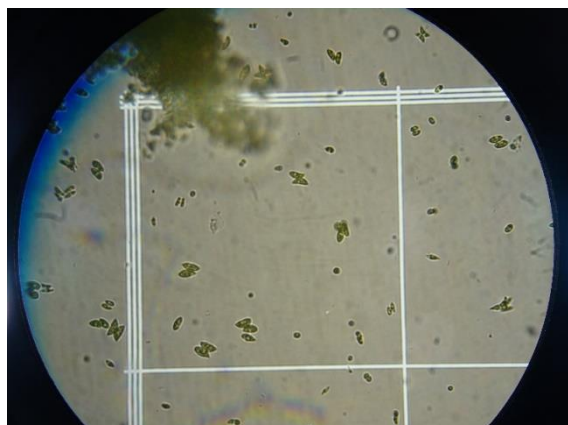


Gráfico 1-2: Conteo de las microalgas inoculadas en el agua residual.

Fuente: Kenia Miño, 2016

Separación la fase liquida para la caracterización

Procedimiento

- Una vez transcurrido los 21 días de cultivo, se procedió a la sedimentación por un día del cultivo para obtener el agua resultante del ensayo de tratabilidad sin contenido de microalgas y posteriormente caracterizar el agua.
- Se caracterizó los parámetros de DBO, DQO, nitratos y fosfatos del agua resultante del ensayo de tratabilidad.
- Obtenido los resultados se procedió a escalar el medio de cultivo con mayor porcentaje de remoción de DBO y de la misma manera el que mayor porcentaje de DQO redujo.

2.3.1.3. Caracterización química del agua resultante del ensayo de tratabilidad

Una vez obtenida la fase liquida se procedió al análisis químico de los parámetros de DBO, DQO, Fosfatos y Nitratos de cada concentración de agua residual propuesta en la metodología del ensayo de tratabilidad.

Análisis de Fosforo total

Procedimiento

- El análisis se inició con una dilución de 10 mL del agua pre-tratada durante los 21 días aforada con agua destilada hasta 100 mL
- Se homogenizo la muestra para proceder con el análisis del fosfato en la maquina HACH DR2800.
- Se selecciona en la pantalla de equipo donde se encuentra los programas almacenados y se escoge el test 490 rect. PV.
- Una vez preparada la muestra de agua residual y aforada con la destilada se extrae con una pipeta 10 mL de la muestra y se le coloca en un recipiente cuadrado.
- Añadir el contenido de un sobre de PhosVer 3 en polvo.
- Agitar con rotación para homogenizar la mezcla.
- Y comienza un periodo de reacción.
- Preparar el blanco, llenar en una cubeta con 10 mL de agua destilada.
- Temporizar el equipo, limpiar bien el exterior de la cubeta y colocar el blanco en el soporte porta cubetas con la marca de llenado hacia el frente.
- Seleccionar la pantalla a cero.

- Una vez limpiada la cubeta se procede a colocar la muestra preparada y seleccionar en la pantalla medición.
- El resultado nos dará en mg/L.

Análisis de nitratos

- El análisis se inició con una dilución de 10 mL del agua pre-tratada durante los 21 días aforada con agua destilada hasta 100 mL
- Se homogenizo la muestra para proceder con el análisis del fosfato en la maquina HACH DR2800.
- Se selecciona en la pantalla de equipo donde se encuentra los programas almacenados y se escoge el test 355 N Nitrato RA.
- Una vez preparada la muestra de agua residual y aforada con la destilada se extrae con una pipeta 10 mL de la muestra y se le coloca en un recipiente cuadrado.
- Añadir el contenido de un sobre de reactivo de NitraVer 5 en polvo.
- Agitar con rotación la muestra preparada, para la mezcla.
- Después de mezclar se formará un color ámbar si existe nitratos.
- Seleccionar en la pantalla el símbolo de temporizador y pulsa ok.
- Comienza un periodo de reacción.
- Preparar un blanco con agua destilada.
- Temporizar el equipo, limpiar bien el exterior de la cubeta y colocar el blanco en el soporte porta cubetas con la marca de llenado hacia el frente.
- Seleccionar la pantalla a cero.
- Una vez limpiada la cubeta se procede a colocar la muestra preparada y seleccionar en la pantalla medición.
- El resultado nos dará en mg/L $NO^{-3} -N$.

Análisis de DBO

- El análisis se inició con una dilución de 20 mL del agua pre-tratada durante los 21 días aforada con agua destilada hasta 100 mL.
- Se homogeniza la muestra.
- La muestra se traspasó a un frasco ámbar.
- Y se agregó los nutrientes de Ca, Fe y Mg.
- Se le añadió un agitador magnético.

- Se le agrega KOH a la mezcla de la muestra en la botella ámbar.
- Se coloca los cabezales BOD SENSOR SYSTEM 6.
- Se toma las mediciones diariamente en la mañana y se reportan los datos, a los cinco días se toma el último dato que es el que servirá en el análisis.

Análisis de la DQO

- El análisis se inició con una dilución de 20 mL del agua pre-tratada durante los 21 días aforada con agua destilada hasta 100 mL.
- Tomar 2 mL de la muestra diluida.
- Introducir en el vial HACH CAT 2125925
- Someter al calentamiento de 180° en el equipo Thermoreactor.
- En HACH DR2800, seleccionar en la pantalla los programas almacenados.
- Seleccionar el test 435.
- Colocar el blanco con agua destilada en el soporte porta cubetas con la marca de llenado hacia el frente.
- Seleccionar la pantalla a cero, introducir el vial con la muestra.
- Seleccionar en la pantalla del equipo medición y nos presentara el valor de la DQO.

2.3.1.4. Remoción del DBO Y DQO

Para medir el porcentaje de remoción de nutrientes, se necesita saber la concentración inicial, es decir, en mi caso el valor de la DBO y la DQO que contenía el agua residual y la concentración final después del tratamiento para esto se necesita caracterizar el agua residual para obtener los valores finales de los parámetros de interés, aplicamos una fórmula para evaluar el porcentaje de remoción que se obtuvo al final del tratamiento y verificar la eficiencia que tiene la metodología en bajar los nutrientes en poco tiempo. Aplicamos la siguiente ecuación:

Ec.2-2: Porcentaje de remoción

$$\% \text{Remoción} = \frac{Ci - Cf}{Ci} \times 100$$

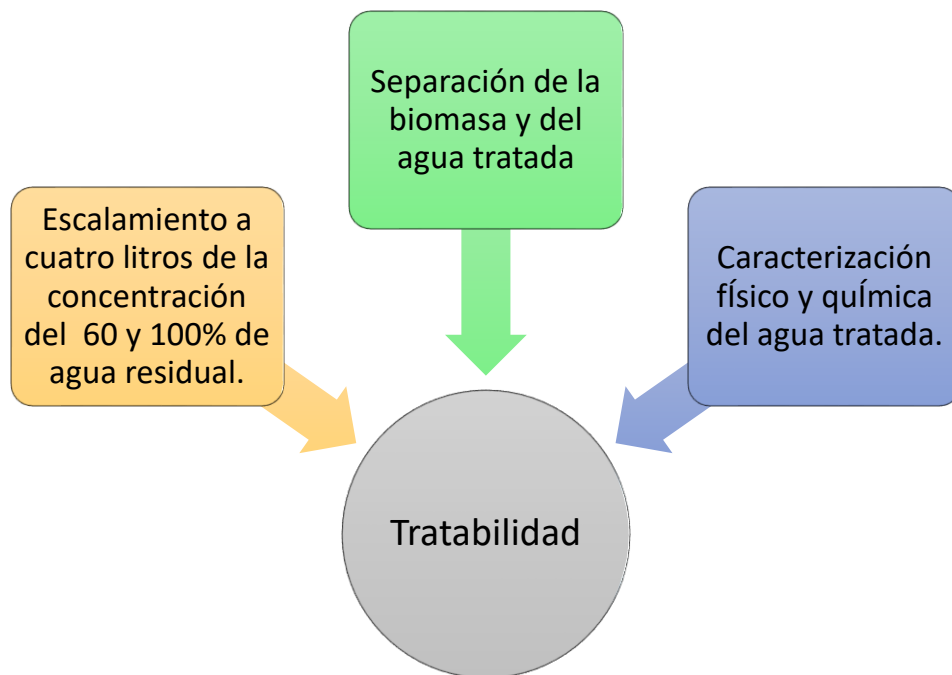
Donde:

C_i= concentración inicial

C_f= concentración Final

2.3.2. Tratabilidad del agua y producción de la biomasa microalgal.

Tabla 10-2: Resumen de la metodología de la tratabilidad del agua.






Realizado por: Kenia Miño.2016

2.3.2.1. Fase de escalamiento

Se empezó con una población 1×10^6 cel. ml^{-1} , con un volumen de medio de cultivo “agua residual” de 250 ml y un inóculo de microalgas de 117 ml por cada réplica del tratamiento, una vez terminado el ensayo de tratabilidad y caracterizada el agua restante, se obtuvo resultados de la reducción de nutrientes y se procedió al escalamiento del 100% y del 60% hasta obtener un volumen de cuatro litros.

Tabla 11-2: Escalamiento de la fase de tratabilidad del cultivo del consorcio de microalgas.

Escalamiento	Descripción
	<p>Envases con contenido de 250 mL, con una concentración inicial poblacional 1×10^6 cel. ml^{-1}, con un TDR: 21 días</p>
	<p>Escalamiento del 100% y 60%, con un volumen de 800 ml, cada semana se procedió a inocular un volumen de 1500 ml por tratamiento</p>
	<p>Se obtuvo los 4 L del tratamiento del 60% y del 100 % de concentración del agua residual.</p>

Realizado por: Kenia Miño.2016

2.3.2.2. Cosechado de la biomasa

2.3.2.2.1. Sedimentación por gravedad

Este método se aplica para separar las microalgas del agua residual, aunque es un método lento pero nos ayuda para no poner floclulantes químicos, la sedimentación se dejó por dos días para proceder extraer el agua y la biomasa.

Una vez obtenido mayor concentración de biomasa se procede a la centrifugación este método es para poco volúmenes.

2.3.2.2.2. Centrifugación

Es un método que nos permite separar sólidos y líquidos de diferentes densidades provocando la sedimentación de las partículas más pesadas

Una vez obtenido la mayor concentración de biomasa procedemos a la centrifugación.

Procedimiento

- Se coloca la muestra en tubos falcón ya sea de 15 ml o 40 ml depende de la centrifugadora que tenemos a nuestro alcance.
- Se procede a poner un volumen igual en ambos tubos que serán centrifugados.
- Se centrifúgo 4000 rpm en un tiempo de 4 minutos.
- El líquido restante se coloca en un envase.
- Se procedió obtener solo la biomasa.



Gráfico 2-2: Centrifugación de la biomasa a 4000 rpm.

Fuente: Kenia Miño, 2017

2.3.2.3. Secado de la muestra

Este paso es necesario para secar la humedad que tenemos de la biomasa final

Procedimiento

- Una vez alcanzada la biomasa del tratamiento del 100 % de concentración de agua residual.
- Se colocó la biomasa en la estufa por un día para su secado a 45°C.
- Para obtener una biomasa seca con menos porcentaje de humedad para su posterior análisis bioquímico de la biomasa final.

2.3.3. Análisis bioquímico de la biomasa

Cuando ya se obtuvo solo la biomasa de microalgas cultivadas en el tratamiento con concentración de agua residual del 100%, se analizó la composición bioquímica: la humedad, fibra, grasa, carbohidratos, proteínas y cenizas en el laboratorio de servicios públicos de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Central del Ecuador usando los siguientes métodos descritos en la Tabla 12-2.

Tabla 12-2: Métodos usados en el análisis bioquímico de la biomasa.

Parámetros	Método
Proteína (Factor 6,25)	MAL-04/AOAC 981.10
Humedad	MAL-13/ AOAC 925.10
Grasa	MAL-03/ AOAC 991.36
Cenizas	MAL-02/ AOAC 923.03
Fibra cruda	MAL-50/ Pearson
Carbohidratos	Cálculo
Calorías	Cálculo

Realizado por: Kenia Miño.2017

2.4. Análisis Estadístico

Para la realización del análisis estadístico se usó el programa IBM SPSS Statistics, para comparar los tratamientos planteados, y se realizaron los siguientes análisis estadísticos:

Prueba T

Se empleó la prueba T que es utilizado para la comparación de dos grupos de muestras, se aplicó este análisis para la remoción de DBO, DQO.

ANOVA

Esta prueba estadística de análisis de varianza, se utilizó para verificar en que cual de los cuatro tratamiento presento más crecimiento del consorcio de microalgas en función al tiempo.

Y también fue utilizada para el análisis estadístico del tratamiento para verificar si existió una diferencia significativa entre los tratamientos con el consorcio de microalgas, y aceptar o rechazar la hipótesis nula.

Niveles de significancia

$P > 0,005$ = no existe significancia.

$P \leq 0,005$ = si existe una diferencia significancia.

$P \leq 0,001$ = existe un diferencial alta de significancia.

CAPÍTULO III

3. MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Etapa I de la investigación

3.1.1. Recuento de microalgas

El cultivo del consorcio de microalgas *Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus.sp*, se adecuó con las condiciones propicias para su desarrollo, una vez alcanzada la fase de exponencial se procede a escalar para obtener un volumen favorable para el inicio de la investigación en el agua residual de la industria alimenticia SIPIA S.A.

$$\text{N}^\circ \text{ de células} = \frac{\text{N}^\circ \text{ células}}{\text{N}^\circ \text{ de cuadrantes}} \times 10000 \text{ mL (Guillard, 1973)}$$

$$\text{N}^\circ \text{ de células} = \frac{848}{4 \text{ cuadrantes}} \times 10000 \text{ mL}$$

$$\text{N}^\circ \text{ de células} = 212 \times 10000 \text{ mL}$$

$$\text{N}^\circ \text{ de células} = 2120000 \quad \text{Ecuación (1)}$$

Ecuación 1. La determinación del número de células por cada mL del cultivo del consorcio de microalgas con un volumen de 4 litros, es un procedimiento necesario para obtener el inóculo de microalgas que se desarrollaran en el agua residual de la industria alimentaria.

$$C1 * V1 = C2 * V2$$

$$V1 = \frac{(1 \times 10^6 \text{ cel.ml}^{-1})(250\text{mL})}{2120000 \text{ Cel}}$$

$$V1 = 117,9 \text{ mL}$$

Ecuación (1-2): Volumen necesario para comenzar la metodología del cultivo propuesto en la Tabla 8-2 con una concentración inicial $1 \times 10^6 \text{ cel. ml}^{-1}$ de microalgas en el agua residual alimentaria de la industria SIPIA S.A.

3.2. Etapa II de la investigación

3.2.1. Caracterización del agua residual

3.2.1.1. Caracterización física

El muestreo del agua se efectuó en la primera descarga del proceso de producción realizando el muestro diario, durante cuatro días debido a que cada día se realizaban diferentes procesos de producción en la industria alimentaria y se realizó una caracterización física del pH y temperatura posiblemente que estos dos parámetros influyen en la toxicidad y la supervivencia de organismos acuáticos así como la disponibilidad del fósforo en el agua que es un nutriente importante para la asimilación y crecimiento de las microalgas.

El agua residual colectada durante los cuatro días contenía piña, palmito, guayaba, fresa, mora, naranja, durazno, berenjena, pepinillo, ají, ajo, choclo dulce, chocho, y al final del muestreo se realizó una caracterización física permitiéndome obtener el valor de pH 4,23 y una temperatura de 26°C, el valor del pH está influenciado por el contenido de piña, ajo y ají que producen que la muestra se acidifique.

La caracterización física in situ se detalla los valores diarios en la Tablas del 1-3 hasta 4-3:

Tabla 1-3: Día uno. Caracterización física del agua residual

HORAS	pH	TEMPERATURA (°C)	ELEMENTO DEL PROCESO PRODUCTIVO
8:00	5	25	PIÑA – PALMITO
10:00	5	25	PIÑA – PALMITO
11:00	4	25	PIÑA – PALMITO

12:00	6	25	PIÑA – PALMITO
14:00	6	25	GUAYABA - PIÑA – PALMITO
15:30	6	25	GUAYABA - PIÑA – PALMITO

Realizado por: Kenia Miño, 2016

Tabla 2-3: Día dos. Caracterización física del agua residual

HORAS	pH	TEMPERATURA (°C)	ELEMENTO DEL PROCESO PRODUCTIVO
8:00	6	25	Piña y Palmito.
10:00	6	25	
11:00	4	25	
12:00	6	25	
14:00	5	25	
15:30	5	25	

Realizado por: Kenia Miño, 2016

Tabla 3-3: Día tres. Caracterización física del agua residual

HORAS	pH	TEMPERATURA (°C)	ELEMENTO DEL PROCESO PRODUCTIVO
9:00	6	25	BERENJENA, PIÑA CHOCLO DULCE, AJO FRUTILLA, MORA Y NARANJA.
10:00	4	25	
10: 30	5	25	
11:00	6	25	
12:00	6	25	
15:00	5	24	
16:00	5	25	

Realizado por: Kenia Miño, 2016

Tabla 4-3: Día cuatro. Caracterización física del agua residual

HORAS	pH	TEMPERATURA (°C)	ELEMENTO DEL PROCESO PRODUCTIVO
8:30	5	25	Contiene Ají, naranja y Durazno.
09:30	5	25	
10:30	4	26	
12:00	6	26	
14:00	6	26	

Realizado por: Kenia Miño, 2016

2.3.2.3. Caracterización química

En la caracterización química del agua residual se analizó la DBO y la DQO que son los parámetros a reducir, también se analizó los nitratos y fosfatos que son los nutrientes que necesitan las microalgas para poder crecer he influncian la calidad y la producción de la biomasa.

El análisis de aceites y grasas nos permitirá obtener los valores iniciales que presenta el agua residual con el propósito que al final del tratamiento observar si existen cambios o la acumulación de grasas en la biomasa residual de las microalgas influenciada por este parámetro. Los valores de los parámetros analizados se presentan en la Tabla 5-3.

Tabla 5-3: Caracterización química del agua residual de la industria alimentaria SIPIA S.A.

Parámetros	Unidades	Resultado
DBO5	mgO2/L	1712
DQO	mgO2/L	3455
Fosforo Total	mg/L	7,5
Nitratos	mg/L	24,7
Nitritos	mg/L	0,028
Aceites y grasas	mg/L	59,0

Realizado por: Kenia Miño, 2016

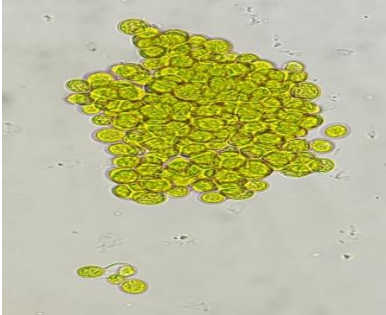

Fuente: Universidad Central del Ecuador Laboratorio OSP.

Los valores analizados de DBO es 1712 mgO₂/L y de DQO es 3455 mgO₂/L, estos valores son altos debido que son originarios del proceso productivo de una empresa alimentaria que es rica en nutrientes y la muestra de agua es recolectada al inicio de la descarga del proceso de producción antes de ser conducido a la planta de tratamiento.

2.3.3. Evaluación de las microalgas presentes en el agua residual

La evaluación al microscopio de las muestra de agua a tratar mostro la presencia de dos tipos de microalgas diferentes en la Tabla 6-3, las cuales no fueron identificadas en este tipo de trabajo.

Tabla 6-3: Observación en el microscopio de las microalgas

Microalgas presente en el agua residual	
	DESCONOCIDO
	DESCONOCIDO

Realizado por: Kenia Miño, 2016

3.3. Etapa III de investigación

3.3.1. Ensayo de tratabilidad

3.3.1.1. Recuento de las microalgas

El comienzo del ensayo de tratabilidad, aborda con el inóculo del consorcio de microalgas descrita en la metodología en la Tabla 8-2, donde explica la concentración de agua residual que se usó para el cultivo, con excepción del control que solo contiene el agua residual que se aplicó las mismas condiciones que los otros cultivos con microalgas.

El conteo se realizó en el microscopio con la cámara de Neubauer todos los días durante 21 días, al final del conteo se aplicó la Ecuación 1-2 descrita en la metodología para obtener la curva cinética de crecimiento.

Tabla 7-3: Cinética de crecimiento del consorcio de microalgas.

Tratamientos	Concentración del 100 % de agua residual.	Concentración del 80 % de agua residual.	Concentración del 60% de agua residual.	Control
Días	Densidad celular	Densidad celular	Densidad celular	Densidad celular
1	1,00E+06	1,00E+06	1,00E+06	2,58E+02
2	1,04E+06	1,11E+06	1,13E+06	3,58E+02
3	1,11E+06	1,13E+06	1,15E+06	3,58E+03
6	1,34E+06	1,28E+06	1,32E+06	3,50E+04
8	1,52E+06	1,58E+06	1,68E+06	4,63E+04
9	1,89E+06	1,89E+06	1,78E+06	4,12E+05
10	2,59E+06	3,76E+06	4,75E+06	1,46E+06
14	2,52E+06	4,29E+06	4,87E+06	1,35E+06
15	2,54E+06	4,21E+06	4,99E+06	1,37E+06
16	2,22E+06	4,21E+06	4,25E+06	1,84E+06

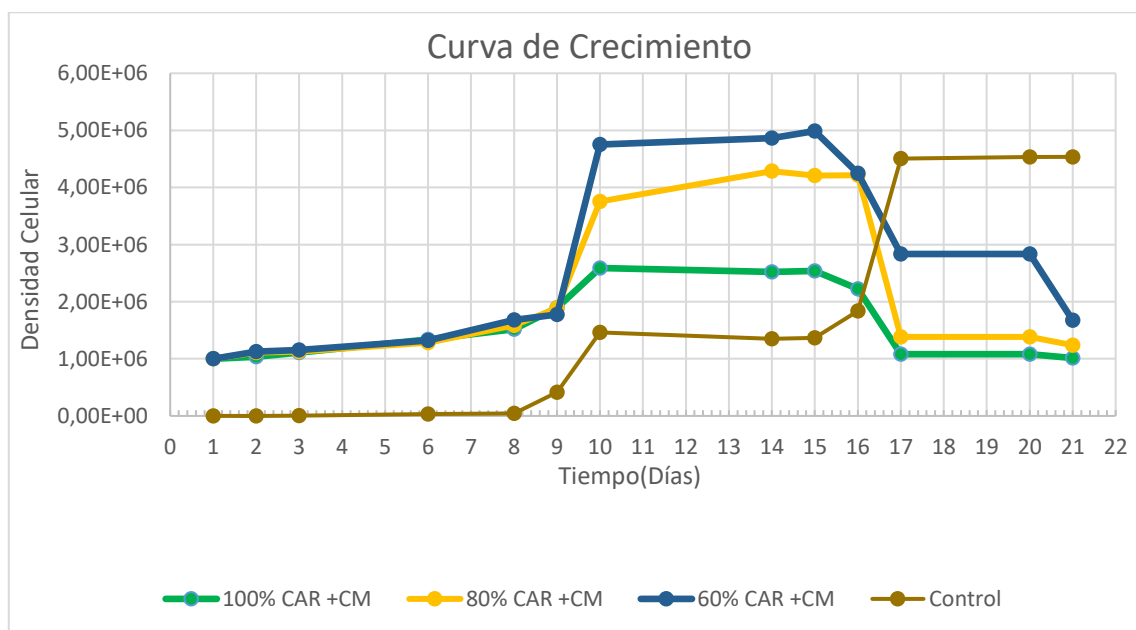
17	1,08E+06	1,38E+06	2,83E+06	4,51E+06
20	1,08E+06	1,38E+06	2,83E+06	4,53E+06
21	1,01E+06	1,24E+06	1,68E+06	4,54E+06

Realizado por: Kenia Miño, 2016.

En la tabla 7-3 se describe la concentración inicial con la que se empezó en cada tratamiento con excepción del control que no se inoculó el consorcio de microalgas y la concentración final que adquiere a los 21 días de cultivo.

El crecimiento celular en aguas residuales tóxicas es posible si se controlan condiciones como la aireación que oxida la materia orgánica, la aplicación de CO₂ como una fuente variable de nutrientes y el aumento de pH para la precipitación de fósforo según (Salazar, 2005, p. 44)

De acuerdo a estos valores se elaboró la curva de crecimiento detallada en el Gráfico 1-3



Descripción del gráfico: CAR + CM: concentración de agua residual más el consorcio de microalgas.

Gráfico 1-3: Curva de crecimiento en las diferentes concentraciones de agua residual.

Realizado por: Kenia Miño, 2016.

De acuerdo a los datos obtenidos del conteo se observa en la curva crecimiento que el consorcio de microalgas necesita un tiempo de adaptación como todo microorganismo al introducir cambios.

En las concentraciones de agua residual 60%,80 y 100% con el consorcio de microalgas tiene un período de latencia hasta el sexto día, y su control que solo se adaptó a las condiciones óptimas de crecimiento de microalgas tiene un comienzo de $2,58E+02$ cel/mL y un período de latencia de 8 días. De manera general se observa que las microalgas requieren de un tiempo de adaptación mayor, lo que es normal según (Arnold, 2013, pp. 12-18)

Fase exponencial: Comienza desde el 6 hasta el día 10 con excepción del control que comienza esta fase en el día 8 del cultivo debido que potencia al crecimiento de los microorganismos autóctonos del agua residual

Fase estacionaria: Tiene un período de cinco días del 10 al 15 en todos los tratamientos con excepción del tratamiento del control que presenta dos fases estacionaria, la primera es del día 10 al 15 y la segunda es del 17 al 21.

La concentración del 100% de agua residual presento un bajo nivel de crecimiento posiblemente que es debido a la presencia de altos contenidos de nutrientes que probablemente podrían ser letales para su crecimiento.

La concentración del 60% de agua residual presenta el mayor crecimiento del consorcio de microalgas, mejor adaptabilidad por disminución de la concentración total de agua residual y diluida con agua destilada. De igual manera con el 80% de agua residual se obtuvo un crecimiento favorable.

El control presenta una curva diaúxia, que es un crecimiento microbiano bifásico, es decir es la presencia de doble curva con una fase estacionaria corta y dos fases exponenciales y cuando dos sustratos diferentes que pueden ser utilizados como fuente de carbono, que tiene lugar cuando el microorganismos crece primero expensas de la fuente de carbono preferente y se agota en la fase estacionaria hasta que sintetiza enzimas para degradar la otra fuente de carbono entonces empieza el crecimiento exponencial con una pendiente más suave. (Sánchez, Departamento de Microbiología de la UGR).

3.3.1.2. Caracterización físico Química del agua del ensayo de tratabilidad

Caracterización física

Después de los 21 días del ensayo de tratabilidad, se realizó la caracterización física el agua, obteniendo los siguientes valores de pH y temperatura en la Tabla 8-3

Tabla 8-3: Caracterización física del agua del ensayo de tratabilidad.

	Réplicas	Temperatura (°C)	pH
100%	R1	26,8	9,23
	R2	27,6	9,10
	R3	27,2	9,27
80%	R1	27,2	9,45
	R2	26,9	9,33
	R3	26,9	9,09
60%	R1	27,3	9,12
	R2	25,25	9,0
	R3	28,12	9,01
CONTROL	R1	25,10	9,01
	R2	26,15	9
	R3	28	9

Realizado por: Kenia Miño, 2017

Los valores de pH se incrementaron al final del ensayo de tratabilidad debido que se le da aireación constante al contenido de agua residual con las microalgas para que no se sedimenten y no empiece su período de muerte, aumentando el valor del pH de 7 a 9. El aumento del pH fue el

resultado de la fotosíntesis de algas, que utiliza Dióxido de carbono disuelto de la solución y por lo tanto eleva el pH según (Arnold, 2013, p.20).

El pH influye directamente en la producción de la biomasa microalgal, es un parámetro que indica la fase de mayor producción de biomasa y según los resultados se da entre los rangos de 9.5 a 10.5. Cuando el pH no es el adecuado las microalgas demoran en llegar al crecimiento exponencial disminuyendo así el proceso de remediación del efluente (Catadeña L y Castillo J, 2016, p. 83).

Caracterización química

Una vez transcurrido el tiempo del ensayo de tratabilidad se hizo un muestreo compuesto para la caracterización química y observar como influencio las microalgas en la reducción de nutrientes durante poco tiempo y con las condiciones adecuadas para el crecimiento de consorcio de microalgas. Los valores se detallan en la siguiente tabla 9-3:

Tabla 9-3: Caracterización química del agua tratada del ensayo de tratabilidad

	Nitratos	Fósforo total	DQO	DBO
	mg/L	mg/L	mgO2/L	mgO2/L
Caracterización inicial del agua residual T0	24,7	7,5	3455	1712
Concentración de agua residual	T1	T1	T1	T1
100%	160	4,5	1315	350
80 %	176	2,5	635	380
60%	48	2,5	470	430
CONTROL	12	3	390	510

Realizado por: Kenia Miño, 2017

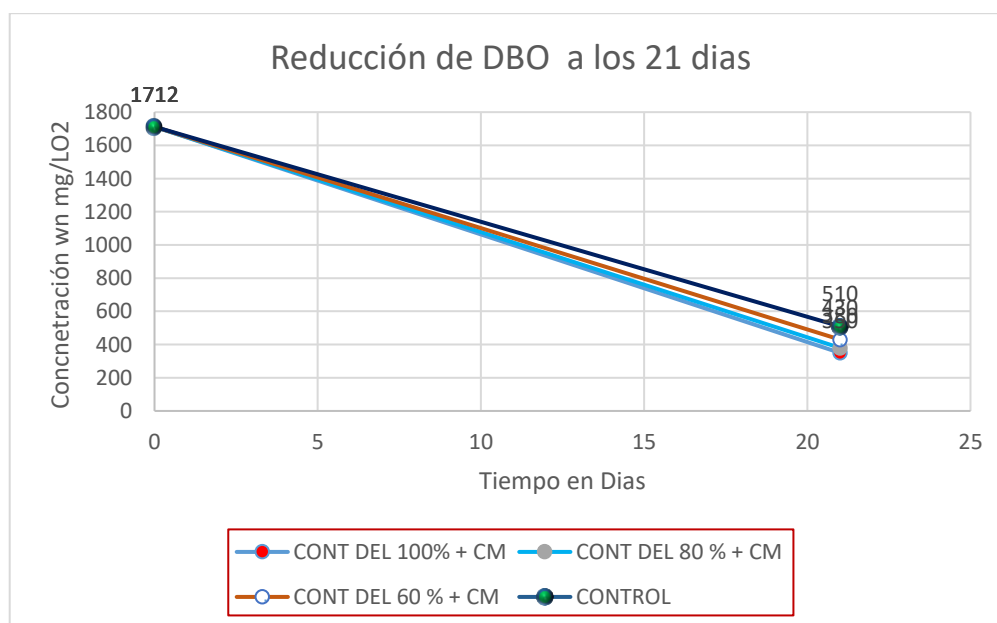
La caracterización de los nitratos a los 21 días de tratamiento presento un aumento por la posibilidad de que las microalgas asimilan mejor los nitritos que los nitratos y requieren

un mayor gasto de energía ya que primero deben reducirse a nitritos para posteriormente reducirse a amonio según (González, 2010, pág. 13).

La remoción del nitrógeno en forma oxidada es decir como amonio, nitrito y nitrato en un cultivo microalgal tiene un comportamiento secuencial, es decir el nitrito y nitrato no son absorbidos por las microalgas hasta que el amonio en su gran mayoría es consumido según (Abalde, 2012).

Los nitratos tienen un aumento en los tratamientos a los 21 días, en las que mostraba más concentración de agua residual, al ir diluyendo con agua destilada la concentración de nitrato fue disminuyendo pero lo mencionado es en los tratamientos con inoculación del consorcio de microalgas, en el caso del control disminuyó los nitratos posiblemente porque solo presentaban las microalgas indígenas.

La reducción de fósforo, se presentó en todos los tratamientos aplicados, con mayor disminución en el tratamiento del 60 y 80 % con un valor de 2,5 mg/L en las dos concentraciones de agua residual.



Descripción del Grafico: CONT: concentración y CM: consorcio de microalgas.

Gráfico 2-3: Reducción de la DBO a los 21 días en los 4 tratamientos.

Realizado por: Kenia Miño, 2017

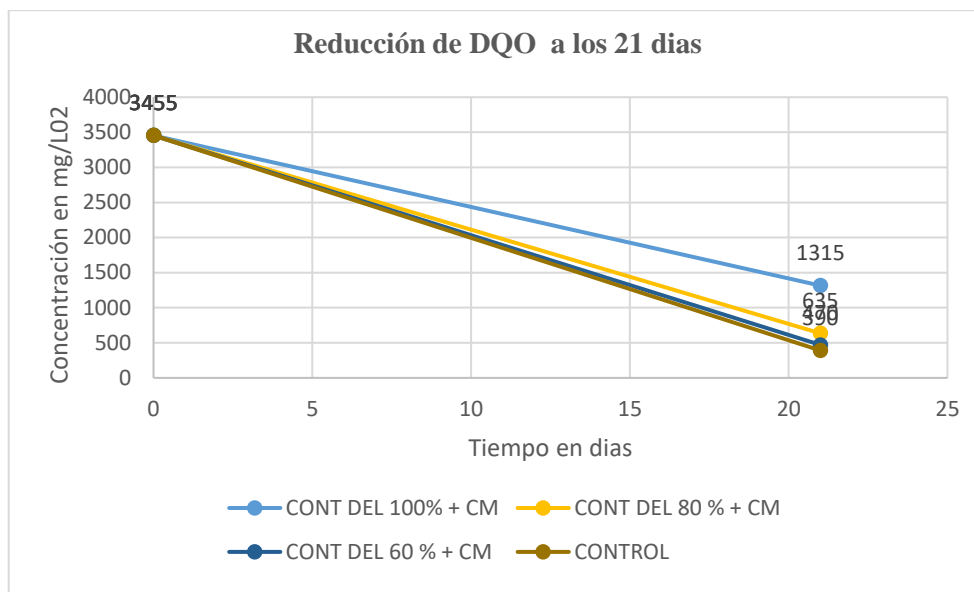


Gráfico 3-3: Reducción de la DQO a los 21 días en los 4 tratamientos.
Realizado por: Kenia Miño, 2017

La utilización de microalgas ha demostrado ser eficiente en la reducción de DBO y DQO (Li et al. 2011, Abdel-Raouf et al. 2012) proveyendo además de oxígeno a las bacterias aeróbicas que ayudan a la biotransformación (Abdel-Raouf et al. 2012).

A los 21 días del cultivo del consorcio de microalgas en el agua residual, el contenido de DBO Y de DQO se redujo como se muestra la tabla 9-3, siendo el tratamiento con concentración de 100 % de agua residual tiene una reducción total del 80%, mientras que los tratamientos del 60 y 80 % de agua residual mostraron disminuciones del 78 y 75% respectivamente. Es importante indicar la microbiota en el control es diferentes y fue capaz de reducir el DBO en un 70 %.

El agua residual es su caracterización presento un valor inicial de 1712 MgO_2/L de DBO y al finalizar los 21 días del ensayo de tratabilidad presenta un valor de 350 MgO_2/L es el tratamiento del 100 % de agua residual que mayor porcentaje de reducción presento, siguiendo con el 80%, el 60 % y el respectivo control.

En el caso del DQO ocurrió lo contrario con el de DBO el mayor reducción de DQO se obtuvieron en el control con el valor inicial de 3455 MgO_2/L y el valor obtenido después de los 21 días es de 390 MgO_2/L que contenía el agua residual con los parámetros de aireación, de luz y temperatura para el crecimiento de las microalgas autóctonas.

Al comparar con la investigación de (Chacón,2004), en la cual la remoción de la DQO tuvo porcentajes menores de reducción y la DQO entre 54,8% y 55,8%, en comparación con la

investigación realizada en esta tesis que obtuvo mayores porcentajes de remoción con este consorcio de microalgas *Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus sp.*

Tabla 10-3: Porcentaje de remoción a los 21 días del ensayo de tratabilidad.

Concentración + CM	Parámetros	Porcentaje de remoción de nutrientes (%)(21 días de tratamiento)
100%	DBO5 (mgO2/L)	80
80%		78
60%		75
Control		70
100%	DQO (mgO2/L)	62
80%		82
60%		86
Control		89

Realizado por: Kenia Miño, 2017

Tabla 10-3 describe el porcentaje de remoción del DBO y DQO a los 21 días del ensayo de tratabilidad influenciando para seguir con el tratamiento del agua residual, donde se tomaron la concentración de 100 % y de 60 % de agua residual para el tratamiento de la misma. El 100% se tomó este pre-tratamientos por su mayor reducción de DBO con un 80 % y el tratamiento del 60% de concentración de agua residual por su menor contenido de DQO con un 86 % excluyendo el control que no contenía microalgas introducidas.

Según (Li et al, 2011) registran valores de DQO de 90,3 y 90,8% en sus experimentos con *Chlorella sp.*, concluyendo que las microalgas utilizaban rápidamente diferentes compuestos orgánicos como fuente de carbono, además del CO₂.

(Olarte y Valencia, 2016), utilizan la microalga *Chlorella Vulgaris* en aguas residuales industriales con residuo de vinaza, para la remoción de DBO Y DQO obteniendo un porcentaje de 30,92 % de reducción en un periodo de 15 días.

3.3.2. Final del tratamiento

Las concentraciones del agua residual del 100% y 60% después del pretratamiento se procedió al escalamiento de 4 litros para su tratamiento con las condiciones óptimas de cultivo y con un tiempo de duración de 30 días, la misma que se procedió de la separación de las fases líquida y sólida para su caracterización química de DBO y DQO de la fase líquida y de igual manera la caracterización bioquímica de la parte sólida.

En la tabla 10-3 se resume los valores obtenidos de la caracterización química del DBO Y DQO durante todo el proceso de tratamiento y el porcentaje de remoción final utilizando la siguiente ecuación descrita en la metodología

$$\% \text{Remoción} = \frac{Ci - Cf}{Ci} \times 100$$

Tabla 11-3: Caracterización química del agua tratada del ensayo de tratabilidad

Concentración + CM	Parámetros	Inicio del tratamiento (0 días de tratamiento)	Ensayo de tratabilidad (21 días de tratamiento)	Final del tratamiento (51 días de tratamiento)	Porcentaje de remoción de nutrientes (%)(51 días de tratamiento)
100%	DBO5 (mgO2/L)	1712	350	108	93,69
80%		1712	380	-	
60%		1712	430	123	92,81
Control		1712	510	-	
100%	DQO (mgO2/L)	3455	1315	301	91,28
80%		3455	635	-	
60%		3455	470	367	89,37
Control		3455	390	-	

Realizado por: Kenia Miño, 2017

La tabla 11-3: se detalla los valores de la caracterización química de DBO Y DQO obtenidos al inicio del tratamiento, en el pre-tratamiento y la final del tratamiento haciendo una comparación entre tratamientos y la evolución que ha tenido la reducción de estos parámetros con el cultivo del consorcio de microalgas en la agua residual de la industria alimenticia SIPIA.S.A.

Con estos valores se remplaza en la ecuación del porcentaje de remoción obtenido el mayor porcentaje de DBO en el tratamiento de la concentración de 100 % de agua residual con un valor de reducción de 93,69%, los datos de los otros tratamientos no varían mucho con excepción del control que presentó un resultado del 70 %, siendo que en los tratamientos del 80% y 60% contienen agua destilada, se implementó esta metodología para no afectar el crecimiento o la muerte del consorcio de microalgas por su alto contenido de DBO Y DQO, por estos motivos se cultivó el consorcio de microalgas en el 100%, el 80 y 60 % de agua residual.

El tratamiento que proporciona mayor porcentaje de remoción de DQO es del tratamiento del 100% con un 91,28 % de remoción de igual manera no varía mucho los valores con los otros tratamientos.

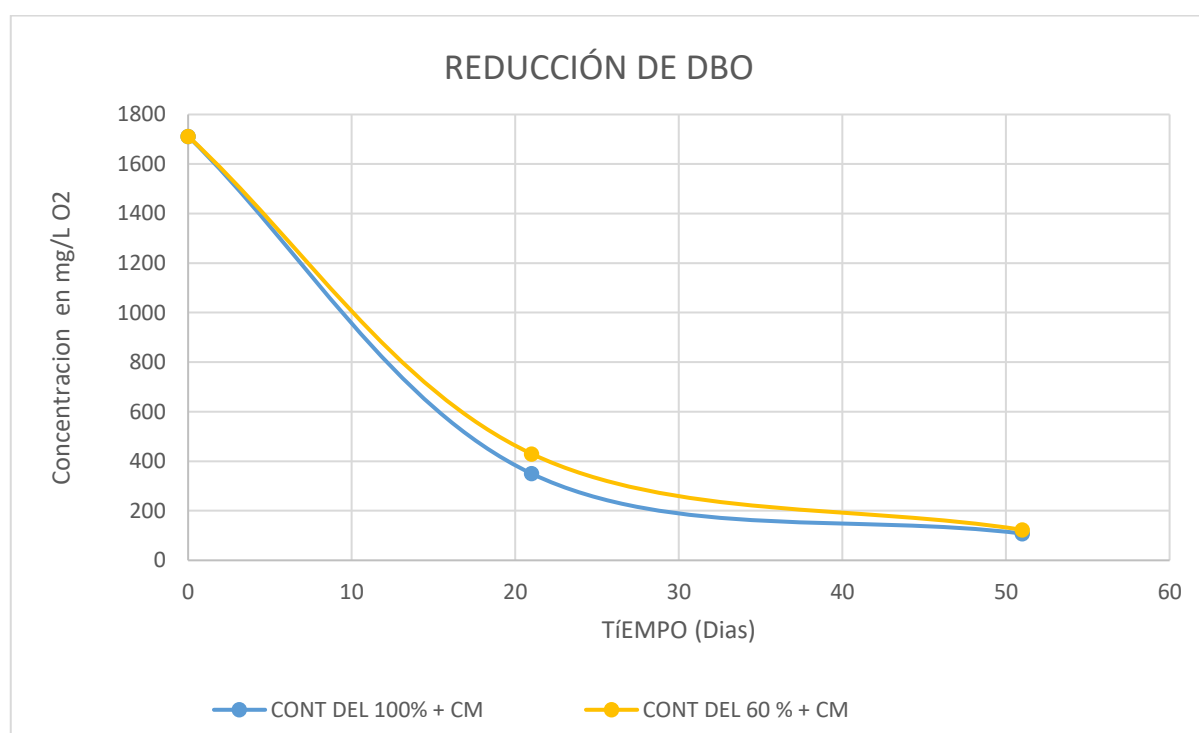


Gráfico 4-3: Reducción del DBO durante 51 días de tratamiento.

Fuente: Realizado por Kenia Miño, 2017.

El gráfico 4-3 representa la evolución de la remoción de DBO en el tratamiento de la concentración de agua residual del 100 % y 60% con el consorcio de microalgas, los valores presentes de la caracterización química del DBO al inicio del tratamiento, en el pre-tratamiento y al final del tratamiento obteniendo valores bajos al final siendo de 108 mgO₂/L en el tratamiento del 100% de concentración de agua residual y el valor 123 mgO₂/L en el tratamiento del 60% de agua residual.

La comparación del DBO al inicio del tratamiento y al final es significativo en un período de tiempo corto de 51 días de cultivo.

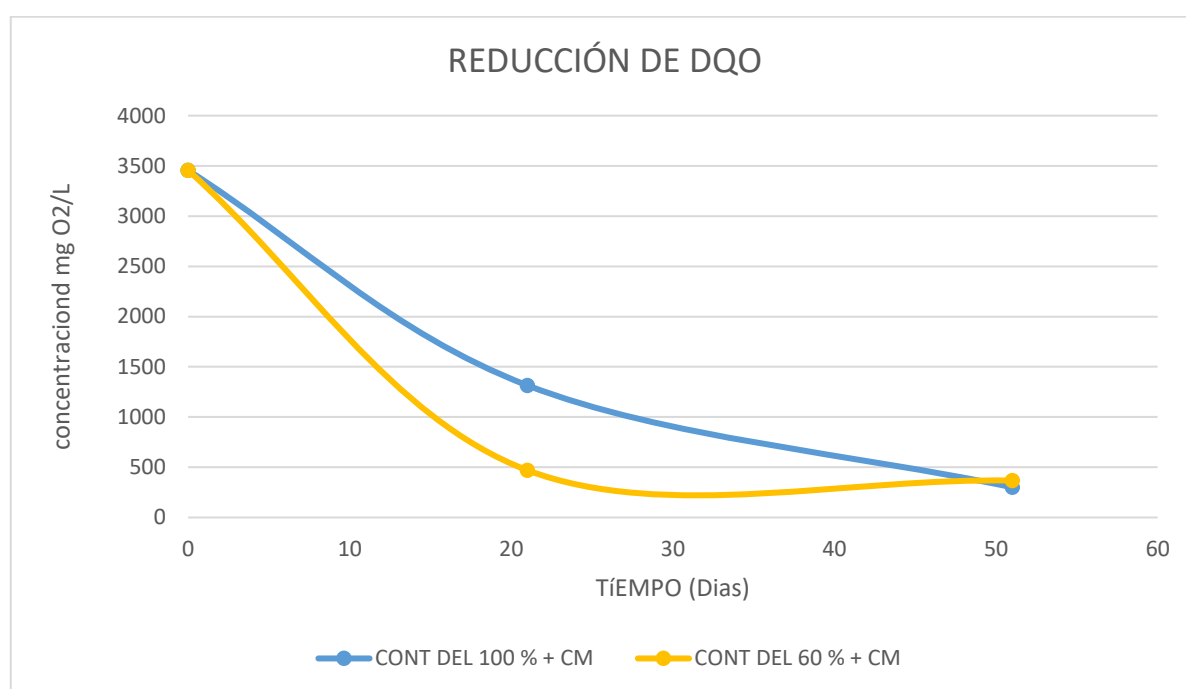


Gráfico 5-3: Reducción del DQO durante 51 días de tratamiento.

Fuente: Realizado por Kenia Miño, 2017.

El gráfico 5-3 representa la evolución de la remoción de DQO en el tratamiento de la concentración de agua residual del 100 % y 60% con el consorcio de microalgas, los valores presentes de la caracterización química del DQO al inicio del tratamiento, en el pre-tratamiento y al final del tratamiento obteniendo valores bajos al final siendo de 301 mgO₂/L en el tratamiento del 100% de concentración de agua residual y el valor 367 mgO₂/L en el tratamiento del 60% de agua residual.

La comparación del DQO al inicio del tratamiento y al final es significativo en un periodo de tiempo corto de 51 días de cultivo.

La utilización del consorcio de microalgas *Chlorella Vulgaris* y *Scenedesmus* sp, presenta mayores beneficios, que al utilizar un solo tipo de microalga, como se demuestra en investigaciones mencionadas, en esta investigación obtiene mayores porcentajes de remoción de DBO Y DQO en 21 días, y en el periodo de 51 días tiene un porcentaje de remoción del 94%.

3.3.3. Calidad de la biomasa

Se realizó una separación de la biomasa de la fase líquida en las dos etapas en el ensayo de tratabilidad a los 21 días en la cual se procedió al pesaje de la biomasa húmeda, los valores descritos en la Tabla: 12-3 y a los 51 días, una vez concluido el tratamiento la biomasa se procedo a su secado solar para reducir el porcentaje de humedad en la muestra.

Tabla 12-3: Pesaje de la Biomasa húmeda a los 21 días de tratamiento

Tratamientos	Pesaje de la biomasa Húmeda
100% de agua residual	10,97 g
80% de agua residual diluida con agua destilada	11,05 g
60 % de agua residual diluida con agua destilada	12,05 g
CONTROL	11,55 g

Realizado por: Kenia Miño, 2017.

Una vez terminado el tratamiento en el agua residual de la Industria Alimentaria SIPIA S.A se obtiene la biomasa de microalgas que han optado por tomar los nutrientes presentes en esta agua para su desarrollo.

La biomasa presente en el tratamiento del 100 % de concentración de agua residual contiene mayor cantidad de nutrientes propias de agua residual de la industria alimentaria y a la vez proporcionándole al consorcio para su desarrollo y capacidad de producción de biomasa.

3.3.3.1. Análisis Bioquímico de la biomasa

La biomasa resultante del tratamiento del agua residual al 100 %, se consiguió filtrando y centrifugando para separar la fase líquida y la sólida, en la cual se analizó la composición bioquímica como carbohidratos, proteínas, humedad, cenizas, fibra cruda y grasa adquirida.

Los datos finales del análisis bioquímico se presentan en el Anexo E, en la cual nos da porcentajes bajos de los nutrientes presente en la biomasa, debido que existe competencia entre las microalgas y las bacterias por los nutrientes presente en el agua residual, según la bibliografía Xiaochen Ma 2014, que causo que no presente un alto valor nutricional en la biomasa final, y además se analizó la biomasa húmeda con el 88 % de humedad.

La comparación entre los parámetros analizados en la biomasa de las microalgas el que más porcentaje presenta son las proteínas con un 4,55 % seguido de los carbohidratos con un 3,57 % y en el caso de las grasa su valor fue más bajo con 1,43 %.

3.4. Análisis de estadístico

3.4.1. Recuento del consorcio de microalgas

a) Análisis de Varianza (ANOVA)

En la tabla 12-3 presenta los resultados del análisis de varianza univariante que se utilizó para el conteo del consorcio de microalgas en cada tratamiento del ensayo de tratabilidad y que se encuentra en función del tiempo.

Tabla 13-3: Conteo de microorganismos

ANÁLISIS ANOVA					
Variable dependiente: CONTEO DE MICROALGAS					
Origen	Suma de cuadrados tipo III	Gl	Media cuadrática	F	Sig.

Modelo corregido	5175570568 8160,695a	5	1035114113 7632,139	7,818	,000
Intersección	1757750829 00985,220	1	1757750829 00985,220	132,759	,000
CONCENTRACION	1171060294 1608,004	3	3903534313 869,335	2,948	,042
Tiempo analizado	4004510274 6552,630	2	2002255137 3276,316	15,123	,000
Error	6620072684 9574,180	50	1324014536 991,484		
Total	2916949257 01128,000	56			
Total corregida	1179564325 37734,880	55			
a. R cuadrado = ,439 (R cuadrado corregida = ,383)					

Realizado por: Kenia Miño, 2017.

Ho

No existe diferencias en el crecimiento del consorcio de microalgas en los diferentes tratamientos en función del tiempo con un $P \geq 0,05$

Hi

Existen diferencias en el crecimiento del consorcio de microalgas en los diferentes tratamientos en función del tiempo con un $P \leq 0,05$ decisión como $P=0$, entonces se desecha la hipótesis nula por lo cual si hay diferencias en el crecimiento en los diferentes tratamientos.

De acuerdo a los valores que presenta la tabla 12-3 del análisis de varianza univariante, indica que tiene una significancia de 0,042 los tratamientos con concentración de agua residual es decir que si existe una diferencia significativa en el crecimiento del consorcio de microalgas en los diferentes tratamientos por ser $P \leq 0,05$ y por lo tanto se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa.

En el análisis del tiempo tiene una significancia de 0,000, este valor nos permite indicar que es altamente significativo y si existe diferencias del crecimiento del consorcio de microalgas entre los tratamiento en función del tiempo.

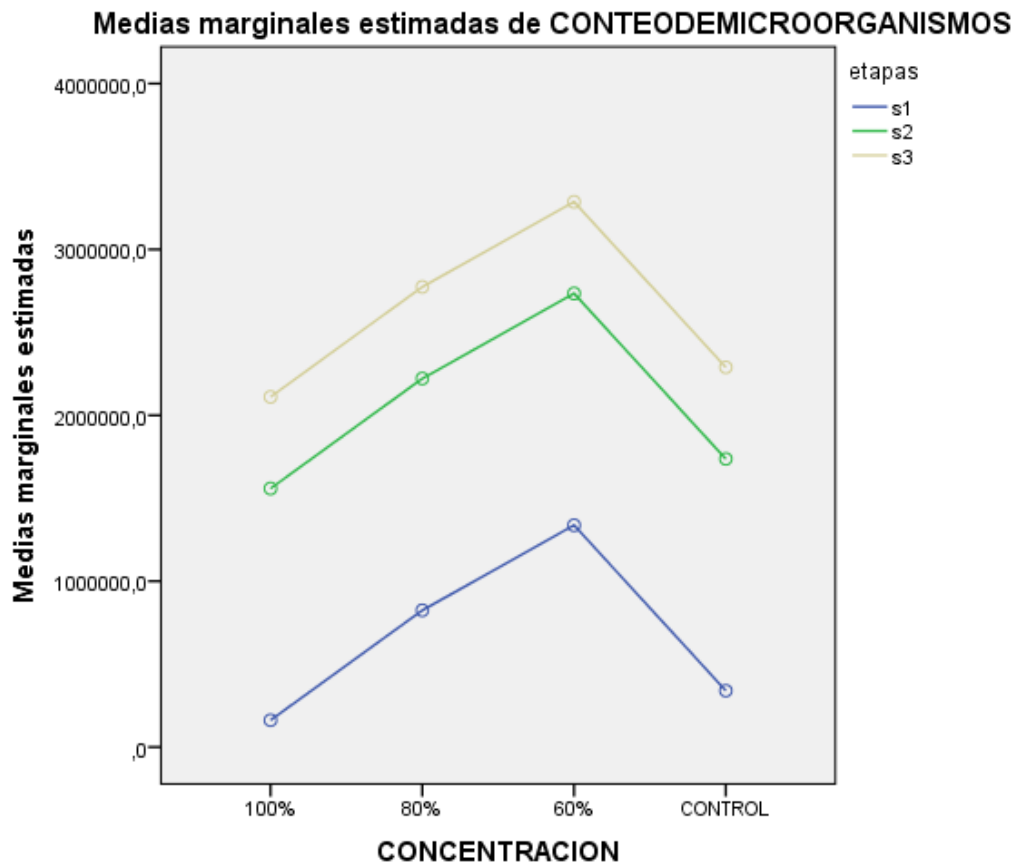


Gráfico 6-3: Crecimiento del consorcio de microalgas de acuerdo a la concentración y con función al tiempo de cultivo.

Realizado por: Kenia Miño, 2017.

El gráfico 6-3 detalla que en la semana tres hubo mayor crecimiento del consorcio de microalgas en el tratamiento del 60% de concentración de agua residual con un valor de más 30000 de cel/mL siendo el tratamiento con el consorcio de microalgas que mayor adaptación tuvo, el tratamiento del 100 % de concentración de agua residual presenta concentraciones menores de microalgas y es el que menos adaptación exhibe.

3.4.2. Ensayo de tratabilidad

3.4.2.1. Remoción de la DBO

a) PRUEBA T

En la tabla 13-3 presenta los resultados de la prueba T para la remoción de la DBO en los cuatro tratamientos analizados a los 21 días de pre-tratamiento y presenta un valor de prueba que es el análisis inicial del agua residual con una DBOO de 1712 mgO₂/L

Tabla 14-3: Remoción de la DBO en los cuatro tratamientos en los 21 días

Prueba T para una muestra						
	Valor de prueba = 1712					
	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
					Inferior	Superior
DBOE T	-37,017	3	,000	-1294,500	-1405,79	-1183,21

Realizado por: Kenia Miño, 2017.

Ho

No existe diferencias entre las concentraciones de DBO antes y después del tratamiento con un $P \geq 0,05$

Hi

Existen diferencias entre las concentraciones antes y después con un $P \leq 0,05$ decisión como $P=0$, entonces se desecha la hipótesis nula por lo cual si hay diferencias entre la concentración de DBO antes y después del tratamiento.

Según los resultados que presenta la tabla 13-3 de la prueba T, indica que tiene una significancia de 0,000 es decir que si existe una alta significancia entre el inicio del pre-tratamiento y el final del pre-tratamiento por ser $P \leq 0,05$.

También nos presenta los valores de intervalo de confianza de diferencia de medias que está comprendida entre -1405,79 y -1183,2, donde existe una diferencia ente los dos valores de -1294,500, es decir que se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa

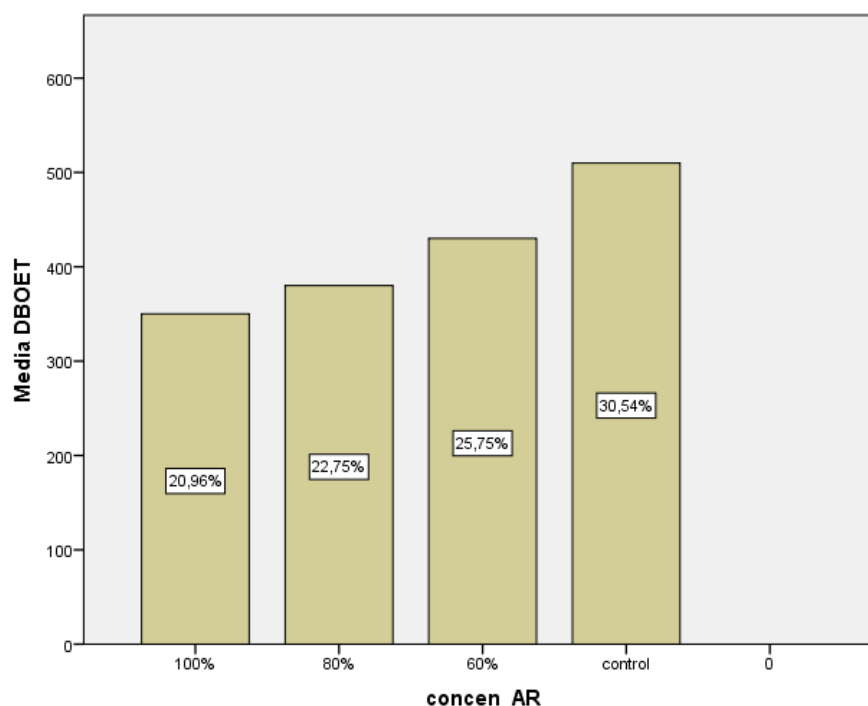


Gráfico 7-3: Remoción de la DBO en los tratamientos.

Realizado por: Kenia Miño, 2017.

El tratamiento del 100 % de concentración de agua residual, es el que mejor valores presenta de remoción de DBO en el pre-tratamiento que duro 21 días, con un porcentaje de 80 % de remoción y continuando con el tratamiento del 80 y 60% de concentración de agua residual y por último el control, el cual el último tratamiento no presenta consorcio de microalgas solo se le adecuo las condiciones óptimas de cultivo como pH, luz, aireación y temperatura para el crecimiento de las microalgas autóctonas presente en el agua residual.

3.4.2.2. Remoción de la DQO

a) PRUEBA T

En la tabla 14-3 muestra los resultados de la prueba T para la remoción de la DQO en los cuatro tratamientos analizados a los 21 días de pre-tratamiento y presenta un valor de prueba que es el análisis inicial del agua residual con una DQO de 3455 mgO₂/L

Tabla 15-3: Remoción de la DQO en los cuatro tratamientos en los 21 días

Prueba para una muestra						
	Valor de prueba = 3455					
	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
					Inferior	Superior
DQO ET	- 13,080	3	,001	-2752,500	-3422,22	-2082,78

Realizado por: Kenia Miño, 2017.

Ho

No existe diferencias entre las concentraciones de DQO antes y después del tratamiento con un $P \geq 0,05$

Hi

Existen diferencias entre las concentraciones antes y después con un $P \leq 0,05$ decisión como $P=0$, entonces se desecha la hipótesis nula por lo cual si hay diferencias entre la concentración de DQO antes y después del tratamiento.

Según los resultados que presenta la tabla 14-3 de la prueba T, indica que tiene una significancia de 0,001 es decir que si existe una alta significancia entre el inicio y el final del pre-tratamiento de la DQO por ser $P \leq 0,05$.

También nos presenta los valores de intervalo de confianza de diferencia de medias que está comprendida entre -3422,22 y -2082,78, donde existe una diferencia entre los dos valores de -2752,500, es decir que se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa.

3.4.3. Tratamiento

3.4.3.1. Remoción de la DBO en el tratamiento de 100% y del 60% de Concentración de agua residual

Tabla 16-3: Remoción de la DBO en el tratamiento del 100 y 60% en 51 días.

Pruebas de los efectos inter-sujetos					
Variable dependiente: RESULTADOS DE DBO					
Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	2916820,58 3 ^a	3	972273,528	1840,99 1	,001
Intersección	3278204,16 7	1	3278204,16 7	6207,25 0	,000
Tiempo de tratamiento	75350,250	1	75350,250	142,675	,007
Concentración de AR	2256,250	1	2256,250	4,272	,175
Error	1056,250	2	528,125		
Total	6196081,00 0	6			
Total corregida	2917876,83 3	5			

a. R cuadrado = 1,000 (R cuadrado corregida = ,999)

Realizado por: Kenia Miño, 2017.

Ho

No existe diferencias entre las concentraciones de DBO antes y después del tratamiento con un $P \geq 0,05$

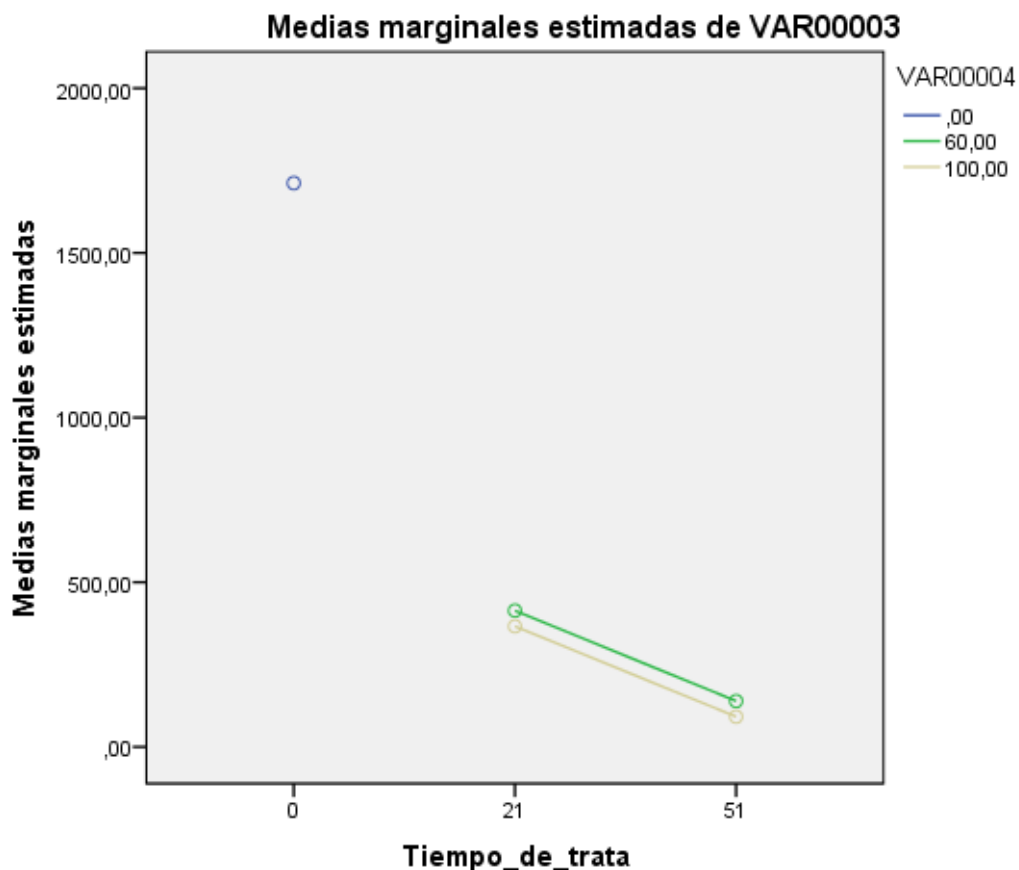
Hi

Existen diferencias entre las concentraciones antes y después con un $P \leq 0,05$ decisión como $P=0$, entonces se desecha la hipótesis nula por lo cual si hay diferencias entre la concentración de DBO antes y después del tratamiento.

Los resultados de la tabla 15-3 del análisis de varianza, indica que el tratamientos de concentración de agua residual tiene una significancia de 0,175 es decir que no existe una

diferencia significativa entre el tratamiento del 60 y 100 % de concentración de agua residual por ser $P \geq 0,05$, entonces se acepta la hipótesis nula y se rechaza la hipótesis alternativa.

En el valor de la significancia de los tratamientos en función al tiempo muestra un valor de 0,007, es decir que si existe una diferencia significativa por ser $P \leq 0,05$, estos valores nos permite analizar que si hubo un reducción del DBO al final del tratamiento en función al tiempo de cultivo, entonces se acepta la hipótesis alternativa y se rechaza la hipótesis nula.



Las medias no estimables no se representan

Gráfico 8-3: Remoción de la DBO en el tratamiento del 60 y 100% en un tiempo de 51 días.

Realizado por: Kenia Miño, 2017.

El grafico 8-3 no muestra que se empezó con un valor alto de DBO y con el transcurso del tiempo se obtuvo una remoción y teniendo que el tratamiento del 100 % de concentración de agua residual a los 51 días obtuvo mayor porcentaje de remoción de DBO con un valor 94 % de remoción y en el tratamiento del 60 % también presentó un valor alto de remoción con 93%, es decir no existe mucha diferencia entre estos dos tratamientos.

3.4.3.2. Remoción de la DQO en el tratamiento de 100% y del 60% de Concentración de agua residual

Tabla 17-3: Remoción de la DQO en el tratamiento del 100 y 60% en 51 días.

Pruebas de los efectos inter-sujetos					
Variable dependiente: RESULTADO de DQO					
Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	11231023,250 ^a	3	3743674,417	36,087	,027
Intersección	14610961,500	1	14610961,500	140,842	,007
Tiempo de tratamiento	311922,250	1	311922,250	3,007	,225
Con AR	151710,250	1	151710,250	1,462	,350
Error	207480,250	2	103740,125		
Total	26049465,000	6			
Total corregida	11438503,500	5			
a. R cuadrado = ,982 (R cuadrado corregida = ,955)					

Realizado por: Kenia Miño, 2017.

H₀

No existe diferencias entre las concentraciones de DBO antes y después del tratamiento con un $P \geq 0,05$

H_i

Existen diferencias entre las concentraciones antes y después con un $P \leq 0,05$ decisión como $P=0$, entonces se desecha la hipótesis nula por lo cual si hay diferencias entre la concentración de DBO antes y después del tratamiento.

Los resultados de la tabla 16-3 del análisis de varianza, indica que el tratamientos de concentración de agua residual tiene una significancia de 0,350 es decir que no existe una diferencia significativa entre el tratamiento del 60 y 100 % de concentración de agua residual por ser $P \geq 0,05$, entonces se acepta la hipótesis nula y se rechaza la hipótesis alternativa.

En el valor de la significancia de los tratamientos en función al tiempo muestra un valor de 0,225, es decir que no existe una diferencia significativa por ser $P \geq 0,05$, estos valores nos permite analizar que si hubo un reducción significativa del DQO al final del tratamiento en función al tiempo de cultivo, entonces se acepta la hipótesis nula y se rechaza la hipótesis alternativa.

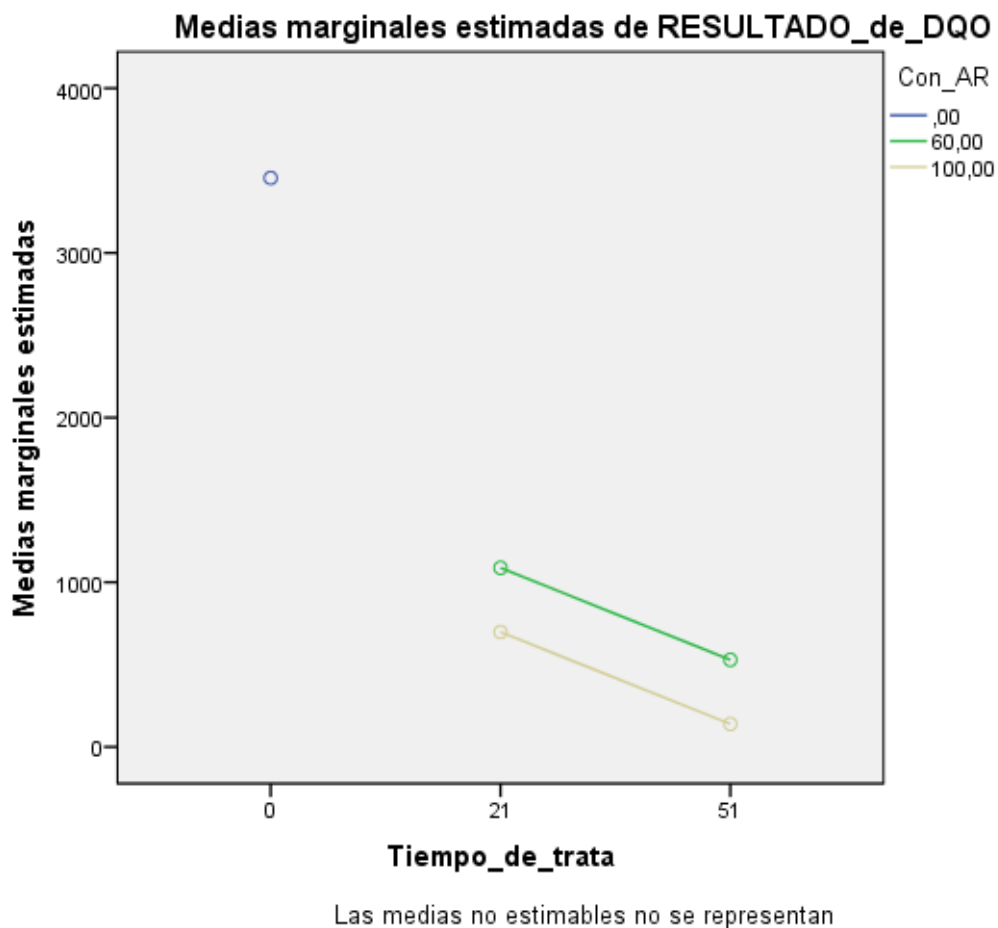


Gráfico 9-3: Remoción de la DQO en el tratamiento del 60 y 100% en un tiempo de 51 días.

Realizado por: Kenia Miño, 2017.

El gráfico 9-3 no muestra que se empezó con un valor alto de DQO y con el transcurso del tiempo se obtuvo una remoción y teniendo que el tratamiento del 100 % de concentración de agua residual a los 51 días obtuvo mayor porcentaje de remoción de DQO con un valor 91 % de remoción y en el tratamiento del 60 % también presentó un valor alto de remoción con 89%, es decir no existe mucha diferencia entre estos dos tratamientos.

CONCLUSIONES

- La caracterización inicial fue producto del muestreo de un período de cuatro días a la salida del proceso de producción de la industria alimentaria SIPIA S.A presentó un alto contenido de DBO y de DQO, una característica típica de este tipo de industrias. Y su caracterización física presentó un pH de 4,23 ácido, debido a su contenido de piña, ají, ajo que producen la acidificación del efluente.
- El tratamiento del agua residual a un 60% diluida con agua destilada obtuvo mayor crecimiento del consorcio de microalgas con una fase exponencial hasta el día 10 presentando una densidad $4,75E+06$ cel/mL, siguiendo con el tratamiento de concentración del agua residual del 80% y del 100% este último tratamiento presentó menos crecimiento alcanzó una densidad de $2,59E+06$ cel/mL en su fase exponencial debido que solo presentaba el agua residual con su alto contenido de DBO Y DQO y al manifestarse alto contenido de nutrientes tiene un período de adaptación más lenta por la toxicidad que puede causarle al consorcio de microalgas.

El tratamiento control sin inoculación de microalgas y con pH 7, inicio con una densidad de $2,59E+02$ cel/mL y su crecimiento fue de manera exponencial alcanzando a los 21 días una densidad de $4,54E+06$ cel/mL.

- En la etapa de tratabilidad todos los tratamientos propuestos incluyendo el control alcanzaron un porcentaje alto de remoción del 70 al 80 % de DBO Y DQO un porcentaje de remoción del 62 al 86 %, siendo el tratamiento de la concentración de agua residual al 100% el que mayor porcentaje removió de DBO y la concentración del 60 % de agua residual el que mayor porcentaje de remoción de DQO excluyendo el control, con estos datos se procedió a la siguiente etapa de tratamiento escalando a cuatro litros con la facilidad de controlar las condiciones físicas óptimas de cultivo del consorcio de microalgas.

En la etapa de tratamiento se escaló la concentración de 100% y del 60% de agua residual, por encontrarse en el porcentaje que mayor redujo el DBO y el DQO, obteniendo resultados favorables durante el tiempo de 51 días que duró toda la etapa de

pretratamiento y del tratamiento con un valor final de 108 mg O₂/L de DBO, un porcentaje de remoción del 94%, la DQO presento una remoción del 91 % con un concentración final de 301 mg O₂/L en el tratamiento de la concentración del 100 % de agua residual, y en el tratamiento del 60% de agua residual presento una remoción del 91 % de DBO y un 89 % de DQO , es decir que no hay diferencia significativa en los tratamiento del 60 y 100% de concentración de agua residual por lo tanto el tratamiento con microalgas en el agua residual de la industria alimentaria tiene ventajas en reducir en altos porcentajes los contaminantes presentes sin generar contaminantes adicionales.

- Los diferentes factores como las bacterias presentes en el agua residual que al igual que las microalgas compiten por el alimento, nos permite comprobar que posiblemente este factor puede alterar la composición bioquímica final de la biomasa y reducir el porcentaje de nutrientes presentes en la biomasa.

La comparación entre los parámetros analizados de la biomasa de las microalgas el que mayor porcentaje presento, son las proteínas con un 4,55 % seguida de los carbohidratos y finalmente con un porcentaje menor de 1, 3 % de lípidos, acumulando más proteínas y carbohidratos en la composición de la biomasa de las microalgas por el aumento de los nitratos en el agua residual que producen estos resultados.

RECOMENDACIONES

- Experimentar con otras especies de microalgas en este tipo de agua residuales con el fin de verificar si la composición bioquímica de la biomasa al final del tratamiento se modifica.
- Evaluar la velocidad de crecimiento y la composición bioquímica de la biomasa del consorcio de microalgas a pH bajos.
- Continuar con la investigación con el fin de comprobar otras variables como la biomasa seca obtenida al final del tratamiento y su influencia en el porcentaje de grasa, proteínas, carbohidratos y fibra en su composición final.
- Realizar estudios de la comparación entre la biomasa húmeda y seca obtenida al final del tratamiento para verificar si existen cambios en la composición bioquímica de la biomasa.
- Experimentar el uso de la biomasa resultante del tratamiento en aguas residuales de la industria alimentaria como biofertilizante.

BIBLIOGRAFÍA

ABALDE, J., et.al. *Microalgas cultivo y aplicaciones*. (2012). Quito: Conejo.

ABDEL-RAOUF, A. A. AL-HOMAIDAN Y I. B. M. IBRAHEEM, “Microalgae and wastewater treatment”, *Saudi Journal of Biological Sciences*, [en línea], 2012, vol. 19, pp. 257-275. [Consulta: 15 de diciembre del 2016]. Disponible en: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.sjbs.2012.04.005> >

ACIÉN FG, et al. “Production cost of a real microalgae production plant and strategies to reduce it”. *Biotechnology Advances* vol. 30, (2012), pp.1344-1353.

ACUARIO, S Y ARCINIEGAS, K. Evaluación de la Remoción de Nitratos y Nitritos en Muestras de agua del Rio San Pedro Cantón Rumiñahui por Microalgas Clorofitas, (Tesis) (Ingeniera). Universidad Politécnica Salesiana, biotecnología de los recursos naturales, sede Quito, 2015, pp. 1-111. [Consulta: 20 de diciembre del 2016]. Disponible en: <<http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/9407/1/UPS-QT07135.pdf>>

Alimentos tratamiento de aguas residuales, Spena group. . [Consulta: 20 de enero del 2017]. Disponible en: <http://spenagroup.com/tratamiento-aguas-residuales-la-industria-alimentaria/>

Aplicaciones de las microalgas estado de la técnica. Malgas [en línea].AST Ingeniera S.L, 2013. [Consulta: 10 diciembre 2016]. Disponible en: <http://proyectomalgas.com/wp-content/uploads/2014/04/guiamalgas.pdf>

ASLAN S. Y KAPDAN I.K. “Batch kinetics of nitrogen and phosphorus removal from synthetic wastewater by algae”. *Ecological Engineering* , vol 28, no 1 (2006), pp. 64–70.

ARNOLD, M. (Ed.). Espoo, Sustainable algal biomass products by cultivation in waste water flows 2013.Filand, ISBN 978-951-38-8084-2 [Consulta: 25 de mayo del 2017]. ISBN 968-5715-51-3. Disponible en http://www.vtt.fi/Documents/2014_T147.pdf

ARREDONDO-VEGA B.O., VOLTOLINA. D. “Métodos y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa microalgal” .Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. [En línea], 2007, (La Paz, B.C.S., México), pp. 21-29. [Consulta: 10 de diciembre del 2016]. ISBN 968-5715-51-3. Disponible en: <<https://www.researchgate.net/publication/253237563>>

AYALA, S. Microalgas: aplicaciones e innovaciones en el tratamiento de aguas contaminadas y la producción de biocombustibles. (Tesis) (Maestría). Los Andes University, Facultad de Ciencias departamento de Ciencias Biológicas, Colombia. 2015. Pp. 2-29[Consulta: 20 de diciembre del 2016]. Disponible en: <<https://www.researchgate.net/publication/278676397>>

BANERJEE, C., et al. "Study of polyacrylamide grafted starch based algal flocculation towards applications in algal biomass harvesting." *International Journal of Biological Macromolecules*. (2012), India. pp. 456-461. [Consulta: 23 de diciembre del 2016]. Disponible en:https://www.researchgate.net/profile/Rajib_Bandopadhyay/publication/227171086_Study_of_polyacrylamide_grafted_starch_based_algal_flocculation_towards_applications_in_algal_biomass_harvesting/links/5590c4c408ae1e1f9bae2bdb/Study-of-polyacrylamide-grafted-starch-based-algal-flocculation-towards-applications-in-algal-biomass-harvesting.pdf?origin=publication_list

BERMEO, L. "Estudio del cosechado de cultivos de microalgas en agua residual mediante técnicas de centrifugado" (Maestría). Universidad Particular de Loja. (Cádiz-España).2011.pp. 1-42. [Consulta: 11 de diciembre del 2016]. Disponible en: http://aula.aguapedia.org/pluginfile.php/11820/mod_resource/content/0/microalgas.cadiz.pdf

BLÁZQUEZ, P. Y MONTERO, C. Reutilización de agua en Bahía Blanca Plata 3era Cuenca, Edt Universidad Tecnológica Nacional U.T.N. (2010). Argentina, pp. 3-29. [Consulta: 20 de diciembre del 2016]. Disponible en: <http://www.edutecne.utn.edu.ar/agua/agua_reutilizacion.pdf>

BRENNAN L & P OWENDE. "Biofuels from microalgae-A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products". *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 14, (2010), pp. 557-577.

CAMACHO, J. Cosechado de microalgas cultivadas en lagunas de alta carga para el tratamiento de aguas residuales: efecto del almidón sobre la floculación y la producción de biogás" [en línea] [tesis] [master]. Grupo de Ingeniería Ambiental y Microbiología. Barcelona-España, 2015 [Consulta: 20 de enero del 2017]. Disponible en: <https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2117/76418/Tesis%20Microalgas%20.pdf>

CATADEÑA, L Y CASTILLO, J. influencia de la iluminancia, pH y tiempo en la remoción de sulfuros, sólidos suspendidos, demanda química y biológica de oxígeno de efluentes de

ribera en curtiembres utilizando microalgas en un fotobiorreactor a escala laboratorio. [Tesis] [Ingeniera]. Universidad Nacional de Trujillo, Facultad de Ingeniería Química, Escuela de Ingeniería Ambiental, Trujillo-Peru.2016, pp. 1-124.[Consulta: 20 de mayo del 2017]. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/1839/Casta%C3%B1eda%20Flores%20c%20Lourdes%20Pamela.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

CERÓN, M. “Producción de microalgas con aplicaciones nutricionales para humanos y animales”.

Cuadernos de estudios agroalimentarios [en línea], 2013, Almería, pp. 87-105. [Consulta: 20 de diciembre del 2016]. ISSN 2173-7568. Disponible en: <http://www.publicacionescajamar.es/pdf/publicaciones-periodicas/cuadernos-de-estudios-agroalimentarios-cea/5/5-642.pdf>

CHISTI, Y. “Biodiesel from microalgae”. *Biotechnology Advances*, vol.25, (2007), pp. 294-306.

DEBORAH E. BERKOWITZ. “Industria Alimentaria en Sectores basados en recursos biológicos” [en línea], Enciclopedia de Salud y Seguridad en el Trabajo, pp.1-36. [Consulta: 17 enero del 2017. Disponible en: <<http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/TextosOnline/EnciclopediaOIT/tomo3/67.pdf>>

DEMIRBAS, A., M. F. DEMIRBAS.”Algae Energy (Algae as a new Source of Biodiesel).” *Ed. Springer.* (2010). [Consulta: 23 de diciembre del 2016]. Disponible en: <<http://www.springer.com/cn/book/9781849960496>>

DEMIRBAS. A., DEMIRBAS. M.F. “Importance of algae oil as a source of biodiesel.” *Energy Conversion and Management*, vol: 52, 2011, Turkey, pp. 163-170. [Consulta: 15 de enero del 2017]. Disponible en: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0196890410002761>>

DE GODOS I, et al. “Long-term operation of high rate algal pondsfor the bioremediation of piggery wastewaters at highloading rates”. *Bioresource Technology*, vol. 100, 2009, pp. 4332-4339

ECHARI, L. *Contaminación del agua*, [En línea]. Navarra, 2007. [Consulta: 10 diciembre 2016]. Disponible en:

<https://www.google.com.ec/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=2&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwjC3pG8wfzTAhWISiYKHTkODFwQFgg5MAE&url=http%3A%2F%2Fwww.unav.es%2Focw%2Fecologiaing0708%2FTema%25208%2520Contaminacion%2520del%2520agua%252007.pdf&usg=AFQjCNG8Ti9qlFyeqeLL4oyFRT67mkxP2Q&sig2=8lYBJdk4IFwfS9xw3y5QFA>

ESCORIHUELA A., et al. "Microalgas presentes en una laguna para pulimento de efluentes de una planta de tratamiento de aguas residuales urbanas". *Revista de la Facultad de Agronomía de La Universidad del Zulia*. Vol.1, no (24), (2007), pp. 225-230

ESPIGARES GARCÍA M, Y PÉREZ, J.A. Aguas residuales composición. Universidad de Granada. Servicio de Publicaciones. Granada. pp. 1-22 [Consulta: 20 de diciembre del 2016]. Disponible en:
<http://cidta.usal.es/cursos/EDAR/modulos/Edar/unidades/LIBROS/logo/pdf/Aguas_Residuales_composicion.pdf>

FON SING, S., A. ISDEPSKY, M. A. BOROWITZKA, N. R. MOHEIMANI. "Production of biofuels from microalgae." *Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change*, (2011), Australia, pp.47-72. [Consulta: 23 de diciembre del 2016]. Disponible en: <https://es.scribd.com/document/195215763/Production-of-Biofuels-From-Microalgae>

FORERO, P. Fundamento teórico sobre tratamiento de aguas residuales por ficorremediación. (Tesis) (Maestría). Universidad Militar Nueva Granada, Facultad de Ingeniería Especialización en Planeación Ambiental y Manejo Integral de los Recursos Naturales, Bogotá. pp 1-12 [Consulta: 20 de diciembre del 2016]. Disponible en: <<http://repository.unimilitar.edu.co/bitstream/10654/13266/1/ARTICULO%20PROYECTO%20DE%20GRADO%20.pdf>>

FLOTATS X, et al. "Manure Processing Activities in Europe -Project reference: ENV.B.1/ETU/2010/0007 Manure Processing Technologies". *Technical Report 2, European Commission, Directorate-General Environment*, (2011), pp. 184

GODOS I, et al. "Long-term operation of high rate algal ponds for the bioremediation of piggery wastewaters at high loading rates" *Bioresource Technology*. (2009). Pp.4332-4339. [Consulta: 20 de diciembre del 2016]. Disponible en: <[https://www.researchgate.net/publication/24413454_Long-](https://www.researchgate.net/publication/24413454_Long-term-operation-of-high-rate-algal-ponds-for-the-bioremediation-of-piggery-wastewaters-at-high-loading-rates)

term_operation_of_high_rate_algal_ponds_for_the_bioremediation_of_piggery_wastewaters_at_high_loading_rates >

GONZÁLEZ, L. Influencia de la deficiencia de nitrógeno y fósforo en las interacciones competitivas entre *Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus acutus*. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias departamento de Biología (2010). Colombia, pp. 1-65 [Consulta: 20 de mayo del 2017]. Disponible en: <<http://www.bdigital.unal.edu.co/5336/1/linamariagonzalezgonzalez.2010.pdf>>

GÓMEZ L. “Microalgas: Aspectos ecológicos y biotecnológicos”. *Revista Cubana de Química*. vol 19, no 2, (2007), pp. 3-20

GOUVEIA L, y OLIVEIRA, AC. “Microalgae as a raw material for biofuels production.” *J Ind Microbiol Biotechnol* (2009).Lisbon Portugal, pp.269–274. 22 [Consulta: 20 de diciembre del 2016]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18982369>

GOUVEIA, L. “Microalgae as feedstock for biofuels.” *SpringerBriefs in Microbiology*, 2011. [Consulta: 23 de diciembre del 2016]. Disponible en: <<http://www.springer.com/cn/book/9783642179969>>

GUILLARD, R. Division rates. *En: Handbook of Phycological Methods*. Stein, J.R. (ed.). Cambridge University Press, Cambridge, 1973, pp.289-312.

Informe de las Naciones Unidas sobre los recursos hídricos en el mundo. Agua para un mundo sostenible cifras. Italia 2015, pp.2-12 [Consulta: 20 de enero del 2017]. Disponible en: http://www.unesco.org/fileadmin/MULTIMEDIA/HQ/SC/images/WWDR2015Facts_Figures_SPA_web.pdf

LARDON L., H. A. “Life-cycle assessment of biodiesel production from microalgae”. *Environmental Science & Technology*. vol 43, (2009). pp. 6475-6481.

LI Y, Y-F CHEN, et al. “Characterization of a microalga *Chlorella* sp. well adapted to highly concentrated municipal wastewater for nutrient removal and biodiesel”. *Bioresour Technol*. 2011, USA. [Consulta: 23 de diciembre del 2016]. Disponible en:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21353532>>

MAKAREVICIENE, V., S. V.,V. ANDRULEVICIUTE. “Biodiesel fuel from microalgae promising alternative fuel for the future: a review.” *Rev Environ Sci Biotechnol*. (2013). Vol: 12, pp.119–130.

INEN 226:2000. *Calidad del agua. Muestreo. Diseño de los programas de muestreo.* pp.1-18.

NÚÑEZ M, *Microalgas acuáticas: la otra escala de la biodiversidad en la Amazonia colombiana.* Bogota, Colombia. Instituto Amazonico de Investigaciones Cientificas - Sinchi-. 2008, p. 240.

OLGUÍN, E.J. “Phycoremediation: key issues for cost-effective nutrient removal process. Biotechnol”. *Environmental Biotechnology Department, Institute of Ecology* [en línea], 2003, México, pp. 81-91. [Consulta: 2 de enero del 2017]. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14623045>>

OLARTE, E Y VALENCIA, M. Evaluación del uso de la microalga *chlorella vulgaris* en el tratamiento de aguas residuales industriales (vinazas)[En línea]] (Tesis). (Maestría). Universidad Nacional Abierta y a Distancia, Escuela de Ciencias Agrarias Pecuarias y del Medio Ambiente Ingeniería Ambiental, 2016. pp. 1-30. [Consulta: 23 de diciembre del 2016]. Disponible en:<<http://repository.unad.edu.co/bitstream/10596/5882/3/91535665.pdf>>

OHSE S., et al. “Crecimiento de microalgas en sistema autotrófico estacionario” Brasil: Biotemas, ((2008). [Versión electrónica]

PALACIOS, I. Producción de biodiésel a partir de microalgas análisis de ciclo de vida y factibilidad económica [En línea] (Tesis). (Maestría). Centro de Investigación en Materiales avanzados, Departamento de estudios de posgrado.Chihuahua.2013.pp.1-97[Consulta: 19 de diciembre del 2016]. Disponible en: <<http://cimav.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1004/135>>

PARK J, R CRAGGS & A SHILTON. “Recycling algae to improve species control and harvest efficiency from a high rate algal pond”. *Water Research*, vol 45, 2011, n° 20 (2011b), (New Zealand), pp. 6637- 6649.

PARK, J.B.K., CRAGGS, R.J. “Algal production in wastewater treatment high rate algal ponds for potential biofuel use”.*Water Science and Technology*, vol 63, 2011a. pp. 2403-2410.

PERAZA, Y. Evaluación del crecimiento de *Chlorella vulgaris* en diferentes concentraciones de vinaza [En línea] (Tesis). (Maestría). Universidad Central Marta Abreu de las Villas. Facultad de Química Farmacia. Santa Clara.2014. pp. 1-64. [Consulta: 18 de diciembre del 2016]. Disponible en:

<<http://dspace.uclv.edu.cu/bitstream/handle/123456789/192/Imprimir%201.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>

PITTMAN J.K., DEAN A.P. Y OSUNDEKO O. “The potential of sustainable algal biofuel production using wastewater resources”, *Bioresource Technolog.* [En línea], (2011), Oxford Road, Manchester, pp. 17-25. [Consulta:23 de diciembre del 2016]. Disponible en: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852410010163>>

PULZ, O and W. GROSS. “Valuable products from biotechnology of microalgae”.*Applied Microbiology Biotechnology.* Vol. 65, 2004.pp. 635-648.

PRESCOTT L., HARLEY J. & KLEIN D., (2002). Microbiología (pp. 614-625). Quinta edición. España: McGraw Hill Interamericana.

QIANG, H., et al. “Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: Perspectives and advances”, (2008),(USA).

R.GARCIA-CUBERO, et.al "Production of carbohydrate-rich microalgal biomass coupled to photosynthetic CO₂ abatement" *FEBS Special Issue*,(2012), pp. 554-554.

RAZZAK, S., et al. “Integrated CO₂ capture, wastewater treatment and biofuel production by microalgae culturing” *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, no. 27, pp. 623-624.24 residual, tal como se muestra en el estudio realizado por Wang, L., et al, en el año 2009.

REBOLLOSO-FUENTES, et al. “Biomass nutrient profiles of the microalga *Porphyridium cruentum*.” *Food Chem.* 2000, pp. 345-353.

REBOLLOSO-FUENTES, et al. “Biomass nutrient profiles of the microalga *Nannochloropsis*” *J. Agric. Food Chem.* 2001, pp. 2966-2972.

RESTREPO, M. “Producción más limpia en la industria alimentaria”. *Producción más limpia*, 2006, pp. 87-101. Colombia Vol. 1 N° 1, [Consulta: 10 diciembre 2016]. Disponible en:

RUIZ, A. Puesta en marcha de un cultivo de microalgas para la eliminación de nutrientes de un agua residual urbana previamente tratada anaeróbicamente [En línea] (Tesis). (Maestría). Universidad Politécnica de Valencia. Hidráulica y Medio Ambiente. Valencia.2011. pp. 3-96. [Consulta: 20 diciembre del 2016]. Disponible en: <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/12831/Ruiz%20Martinez%20Ana%20-%20Tesina%20Fin%20Master%20-%202011.pdf?sequence=1>

SALAZAR, M. *Aplicación e importancia de las microalgas en el tratamiento de aguas residuales*. Mexico: UAMI. (2005).

SANCHEZ, I. Crecimiento Diauxico [en línea]. Universidad de Granada, Departamento de Microbiología de la UGR. [Consulta: 29 junio del 2017]. Disponible en: http://www.diversidadmicrobiana.com/index.php?option=com_content&view=article&id=471&Itemid=519

SPOLAORE, P. “Commercial applications of microalgae” *Journal of Bioscience and Bioengineering*, Laboratoire de Génie des Procédés et Matériaux, Ecole Centrale Paris, 92295 Châtenay-Malabry cedex, France. Vol, 2006, pp.87-96. [Consulta: 20 de enero del 2017]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1389172306705497?via%3Dihub>

STEPHENS, E., Ross, I. et al. “Future prospects of microalgal biofuels production systems”. *Trends in plant science*, vol 15, 2010. pp. 554-564.

Taxonomía de Scenedesmus [en línea]. Honduras: Educación Helvética S.A. Base de Datos, Honduras Silvestre, Versión 3.0, div. Animalia & Plantae, 2012. [20 de diciembre del 2016]. Disponible en: <http://www.hondurassilvestre.com/search/taxa/taxa.aspx?tsn=6104>

URIEL. *Camara de neubauer* [blog].2009, [Consulta: 03 de enero del 2017]. Disponible en: <<http://uriel-93.over-blog.com/article/29526447.html>>

VAN DEN HOEK, C., D.G. MANN and H.M. JAHNS. “An Introduction to Phycology”. *Algae*. Cambridge University Press, 1995, pp. 610

WANG L, Y LI, et al. “Anaerobic digested dairy manure as a nutrient supplement for cultivation of oil-rich green microalgae *Chlorella* sp”. *Bioresource Technology*, vol. 101, (2010), pp. 2623-2628.

WIDJAJA., A., CHIEN., C.-C., JU., Y.-H. “Study of increasing lipid production from fresh water microalgae *Chlorella vulgaris*”.vol 40, 2009, pp. 13-20.

XIAOCHEN, Ma; et al. “Effect of Wastewater-borne Bacteria on Algal Growth and Nutrients Removal in Wastewater-based Algae Cultivation System”. *Bioresource Technology*, 2014.

YOANDYDOBLE. *Chlorella Vulgaris* [en línea]. Ecu red, 2015. [Consulta: 20 de diciembre del 2016]. Disponible en: https://www.ecured.cu/Chlorella_Vulgaris

ANEXOS

ANEXO A: Oficio del ingreso a la industria SIPIA S.A, para la toma de muestras de agua residual.



ESPOCH

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

Of. N.0888 ECQ.FC.ESPOCH.2016
Riobamba, 10 de noviembre de 2016

Ingeniero
Guillermo Narváez
Gerente General SIPIA S.A.
Presente


De mi consideración:

Reciba un atento y cordial saludo, a la vez que me permito solicitarle comedidamente se brinde las facilidades necesarias para que la Srta. **KENIA LIZETH MIÑO HERRERA** pueda realizar tomas de muestras simples de las aguas residuales de la empresa que se encuentra bajo su dirección con la finalidad de que pueda realizar la parte experimental del trabajo de titulación denominado "EVALUACION DE LA REMOCION DE NUTRIENTES Y LA BIOMASA ALCANZADA MEDIANTE EL CULTIVO DE UN CONSORCIO DE MICROALGAS EN AGUAS RESIDUALES - 2016" el 16 de noviembre del presente año.

Por la atención favorable que brinde al presente, le anticipo mi agradecimiento.

Atentamente,

Por una Patria libre, justa, equitativa y solidaria


Dr. Angel Silva D.
Director Esc. Ciencias Químicas
Mercedes G.



Si pia S.A.
Aufenthal.
16. 11. 2016

Si pia S.A.
Aufenthal.
3835613
3835615
act 221

ANEXO B: Resultados de la caracterización química del agua residual.



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
OFERTA DE SERVICIOS Y PRODUCTOS
LABORATORIO DE QUÍMICA AMBIENTAL
INFORME DE RESULTADOS

INF. LAB. AMB 42604
 ORDEN DE TRABAJO No. 54495

SOLICITADO POR:	MIÑO KENIA		
DIRECCION DEL CLIENTE:	LATACUNGA		
MUESTRA DE:	AGUA		
DESCRIPCIÓN:	AGUA RESIDUAL DE SNOB		
FECHA DE RECEPCIÓN:	21/11/2016	HORA DE RECEPCIÓN:	12H19
FECHA DE ANÁLISIS:	DEL 21/11/2016 AL 08/12/2016		
FECHA DE ENTREGA DE RESULTADOS A LA SECRETARIA:	09/12/2016		
CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA			
CARACTERÍSTICA:	TURBIA	ESTADO:	LIQUIDO
		CONTENIDO:	2 LITROS
OBSERVACIONES:	* Los resultados se refieren a la muestra tomada por el cliente y entregada al personal técnico del OSP. * La fecha de recepción corresponde a la fecha en la que se emite la factura.		

RESULTADOS				
PARAMETROS	UNIDADES	RESULTADOS	METODOS	INCERTIDUMBRE %
DBO5	mgO ₂ /L	1712	MAM-38 / APHA 5210 B MODIFICADO	10,00
DQO	mgO ₂ /L	3455	MAM-23A / MERCK 112,28,29,132 MODIFICADO	2,00
FOSFORO TOTAL	mg/L	7,5	MAM-17 / APHA 4500-P C y/o C y E MODIFICADO	12,60
NITRATOS (N-NO ₃)	mg/L	24,7	MAM-43 / APHA 4500-NO3 B MODIFICADO	22,30
NITRITOS (N-NO ₂)	mg/L	0,028	MAM-81 / COLORIMETRICO HACH 375	21,00
SUSTANCIAS SOLUBLES EN HEXANO (ACEITES Y GRASAS)	mg/L	59,0	MAM-40 / APHA 5520 B MODIFICADO	10,70



Servicio de
Acreditación
Ecuatoriana

Acreditación N° OAE LE 1C 04-002, LABORATORIO DE ENSAYOS

Los ensayos marcados con (*) NO están incluidos en el alcance de la acreditación del SAE*



B.F. ALICIA CEPA
 JEFE DE ÁREA DE AMBIENTAL

RAM-4.1.04



Dirección: Francisco Viteri s/n y Gilberto Gatto Sobral - Teléfonos: 2502-262 / 2502-456, ext. 15, 18, 21, 31, 33
 Telefax: 3216-740 - Web: www.facquimuce.edu.ec - E-mail: laboratoriososp@hotmail.com

ANEXO C: Resultados de la caracterización química, parámetros de DBO y DQO del agua tratada de la concentración del 100% de agua residual a los 51 días.



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
OFERTA DE SERVICIOS Y PRODUCTOS

LABORATORIO DE QUÍMICA AMBIENTAL
INFORME DE RESULTADOS

INF. LAB. AMB 43428
 ORDEN DE TRABAJO No. 55047

SOLICITADO POR:	MIÑO KENIA		
DIRECCION DEL CLIENTE:	LATACUNGA		
MUESTRA DE:	AGUA		
DESCRIPCIÓN:	AGUA RESIDUAL TRATADA 100%		
FECHA DE RECEPCIÓN:	08/02/2017	HORA DE RECEPCIÓN:	12H19
FECHA DE ANÁLISIS:	DEL 08/02/2017 AL 20/02/2017		
FECHA DE ENTREGA DE RESULTADOS A LA SECRETARIA:	21/02/2017		
CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA			
CARACTERÍSTICA:	TURBIA	ESTADO:	LIQUIDO
		CONTENIDO:	2 L
OBSERVACIONES:	* Los resultados se refieren a la muestra tomada por el cliente y entregadas al personal técnico del OSP. * La fecha de recepción corresponde a la fecha en la que se emite la factura.		

RESULTADOS				
PARAMETROS	UNIDADES	RESULTADOS	MÉTODOS	INCERTIDUMBRE %
DBO5	mgO2/L	108	MAM-38 / APHA 5210 B MODIFICADO	4,00
DQO	mgO2/L	301	MAM-23A / MERCK 112,28,29,132 MODIFICADO	2,00



Sistema de Acreditación del Ecuador

Acreditación N° OAE LE 1C 04-002, LABORATORIO DE ENSAYOS

Los ensayos marcados con (*) NO están incluidos en el alcance de la acreditación del SAE



B.F. ALICIA CEPA
 JEFE DE ÁREA DE AMBIENTAL



1 / 1

RAM-4.1.04

Dirección: Francisco Viteri s/n y Gilberto Gatto Sobral - Teléfonos: 2502-262 / 2502-456, ext. 15, 18, 21, 31, 33
 Telefax: 3216-740 - Web: www.facquimue.edu.ec - E-mail: laboratoriososp@hotmail.com

ANEXO D: Resultados de la caracterización química, parámetros de DBO y DQO del agua tratada de la concentración del 60% de agua residual a los 51 días.



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
OFERTA DE SERVICIOS Y PRODUCTOS

LABORATORIO DE QUÍMICA AMBIENTAL
INFORME DE RESULTADOS

INF. LAB. AMB 43429
 ORDEN DE TRABAJO No. 55047

SOLICITADO POR:	MIÑO KENIA		
DIRECCION DEL CLIENTE:	LATACUNGA		
MUESTRA DE:	AGUA		
DESCRIPCIÓN:	AGUA RESIDUAL TRATADA 60%		
FECHA DE RECEPCIÓN:	08/02/2017	HORA DE RECEPCIÓN:	12H19
FECHA DE ANÁLISIS:	DEL 08/02/2017 AL 20/02/2017		
FECHA DE ENTREGA DE RESULTADOS A LA SECRETARIA:	21/02/2017		
CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA			
CARACTERÍSTICA:	TURBIA	ESTADO:	LIQUIDO
		CONTENIDO:	2 L
OBSERVACIONES:	* Los resultados se refieren a la muestra tomada por el cliente y entregadas al personal técnico del OSP. * La fecha de recepción corresponde a la fecha en la que se emite la factura.		

RESULTADOS				
PARAMETROS	UNIDADES	RESULTADOS	METODOS	INCERTIDUMBRE %
DBO5	mgO2/L	123	MAM-38 / APHA 5210 B MODIFICADO	4,00
DQO	mgO2/L	367	MAM-23A / MERCK 112,28,29,132 MODIFICADO	2,00



Servicio de
Acreditación
del Ecuador

Acreditación N° OAE LE 1C 04-002, LABORATORIO DE ENSAYOS

Los ensayos marcados con (*) NO están incluidos en el alcance de la acreditación del SAE



B.F. ALICIA CEPA
JEFE DE ÁREA DE AMBIENTAL



2 1/1

RAM-4.1.04

ANEXO E: Análisis bioquímico de la biomasa final del tratamiento del 100% de agua residual.



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
OFERTA DE SERVICIOS Y PRODUCTOS

LABORATORIO DE ALIMENTOS
INFORME DE RESULTADOS

INF.LAB.ALIM- 25606
ORDEN DE TRABAJO No 55046

SOLICITADO POR:	MIÑO KENIA
DIRECCIÓN DEL CLIENTE:	LATACUNGA
MUESTRA DE:	BIOMASA
DESCRIPCIÓN:	BIOMASA DE MICROALGAS
LOTE:	---
FECHA DE ELABORACIÓN:	---
FECHA DE VENCIMIENTO:	---
FECHA DE RECEPCIÓN:	07/02/2017
HORA DE RECEPCIÓN:	14:34
FECHA DE ANÁLISIS:	09-14/02/2017
FECHA DE ENTREGA DE RESULTADOS A LA SECRETARÍA:	14/02/2017
CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA	
COLOR:	Característico
OLOR:	Característico
ESTADO:	SOLIDO
Contenido: 50g	
OBSERVACIONES:	
Los resultados que constan en el presente informe se refieren a la muestra entregada por el cliente al OSP.	
MUESTREADO POR:	El Cliente

INFORME

PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADO	METODO
Proteína (factor 6.25)	%	4.55	MAL-04/ AOAC 981.10
Humedad	%	88.76	MAL-13/ AOAC 925.10
Grasa	%	1.43	MAL-03/ AOAC 991.36
Cenizas	%	1.69	MAL-02/ AOAC 923.03
Fibra cruda	%	1.06	MAL-50/PEARSON
Carbohidratos	%	3.57	Cálculo
Calorías	Cal/100 g	45	Cálculo



[Firma]
 Dr. Geovany Garófalo
 JEFE ÁREA DE ALIMENTOS



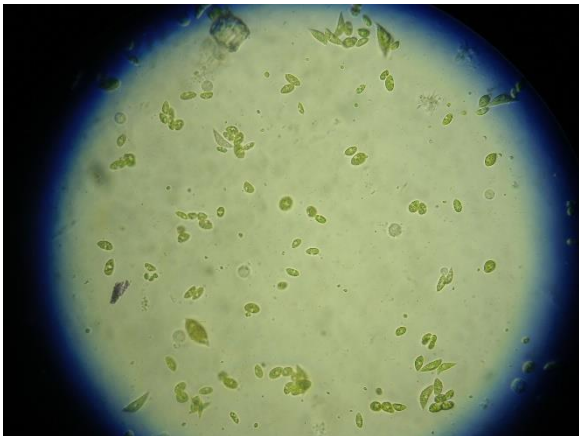
Anexo F: Muestreo del agua residual de la Industria alimentaria SIPIA S.A.



Anexo G: Preparación del agua residual colectada para el ensayo



Anexo H: Conteo del consorcio de cada réplica del tratamiento



Anexo I: Análisis Químico Físico del agua del ensayo de tratabilidad.



ANEXO J: Fase de tratamiento de 30 días de la concentración de agua residual del 100 % y 80% y la extracción de la biomasa

